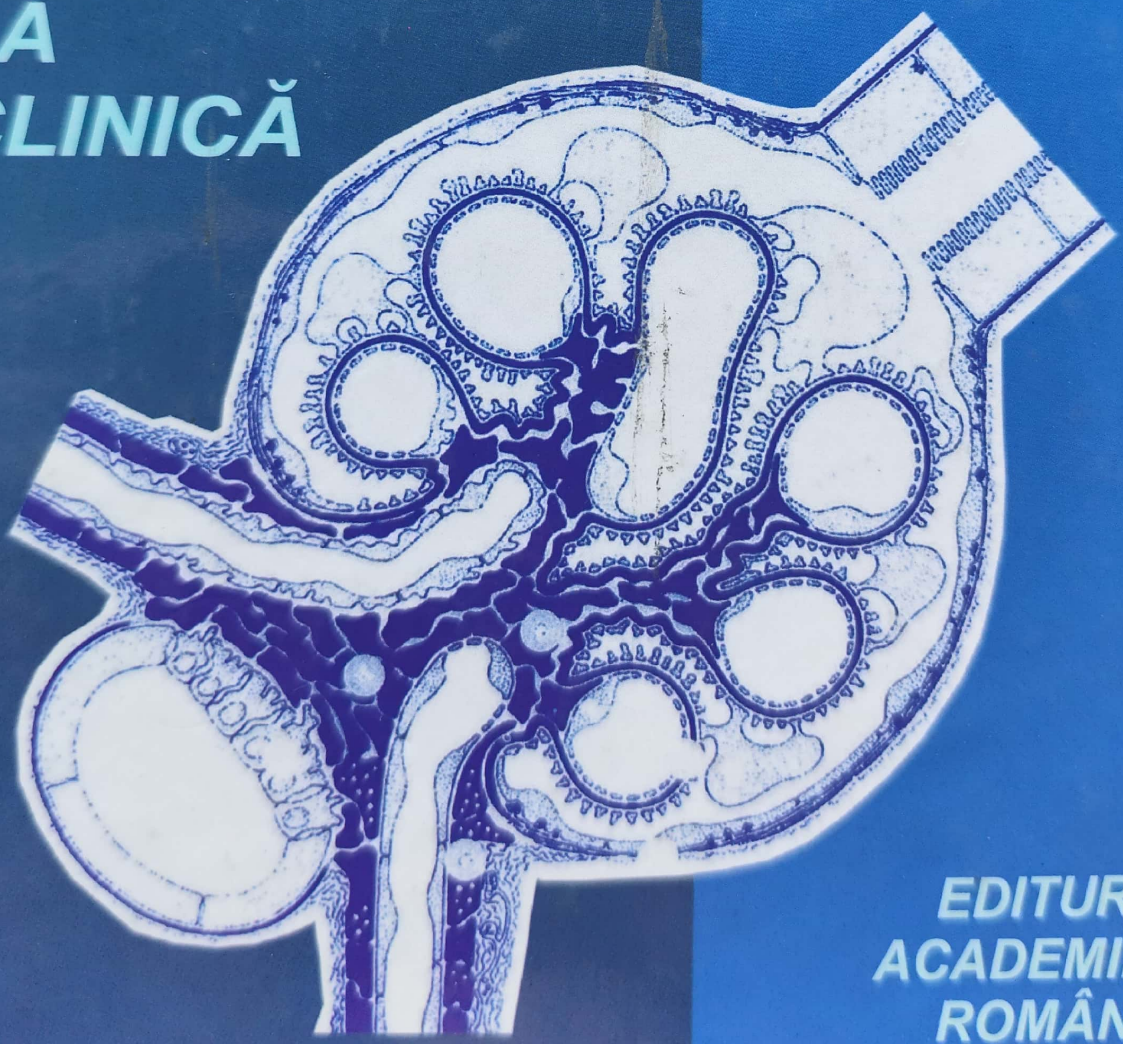
GHEORGHE PETRESCU

ION HAULICĂ

SISTEMUL RENINĂ – ANGIOTENSINĂ

DE LA EXPERIMENT LA CLINICĂ



EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE

Scanned with OKEN Scanner

RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM FROM EXPERIMENT TO CLINIC

Autorii

Prof. Dr. Gheorghe Petrescu
Disciplina de Fiziologie
U.M.F. „Gr. T. Popa" Iaşi

Prof. Dr. Ion Haulică
Disciplina de Fiziologie
U.M.F. „Gr. T. Popa" Iaşi
Membru al Academiei Române

Prof. Dr. Simona-Mihaela Slătineanu
Disciplina de Fiziologie
U.M.F. „Gr. T. Popa" Iaşi

Prof. Dr. Radu Cristodorescu
Clinica de Cardiologie – ASCAR
Spitalul Municipal
U.M.F. Timişoara

Prof. Dr. Mihai Pricop
Clinica IV
Obstetrică-Ginecologie
U.M.F. „Gr. T. Popa" Iaşi

Conf. Dr. Marcel Costuleanu
Disciplina de Fiziopatologie
U.M.F. „Gr. T. Popa" Iaşi

Colectivul de autori mulţumeşte colegilor dr. Walther Bild, dr. Christian Mihăilă şi ing. Angela Costuleanu pentru asistenţa tehnică.

Scanned with OKEN Scanner

Gheorghe Petrescu Ion Haulică

- renină
- angiotensină

SISTEMUL RENINĂ-ANGIOTENSINĂ

DE LA EXPERIMENT LA CLINICĂ

În colaborare cu:
Simona-Mihaela Slătineanu
Radu Cristodorescu
Mihai Pricop
Marcel Costuleanu

Scanned with OKEN Scanner

Copyright © Editura Academiei Române, 2002.
Toate drepturile asupra acestei ediţii sunt rezervate editurii.

Adresa: EDITURA ACADEMIEI ROMÂNE
Calea 13 Septembrie nr. 13, sector 5,
P.O. Box 5–42, RO-76 117, Bucureşti, România
Tel. 401-411 90 08, 401-410 32 00
Fax. 401-410 39 83
E-mail: **edacad@ear.ro**
Internet: **http://www.ear.ro**

Redactor: ADINA OANA
Tehnoredactor: LUIZA DOBRIN
Coperta: GIGI GAVRILĂ

Bun de tipar: 20.05.2002. Format: 16/70×100.
Coli de tipar: 33,75
C.Z. pentru biblioteci mari: 615.361.61
C.Z. pentru biblioteci mici: 615

ISBN: 973-27-0887-5

SALA DE LECTURA

Scanned with OKEN Scanner

Cuvânt înainte

În cei peste 100 de ani care au trecut de la descoperirea reninei s-au acumulat un număr aproape de necuprins de date experimentale şi clinice privind prezenţa, distribuţia şi implicaţiile normale şi patologice ale SRA. Progrese cognitive şi aplicative importante s-au realizat mai ales în ultimele trei decenii, o dată cu introducerea metodelor noi radioimunologice, imunohistochimice şi fizio-farmacologice de studiu a componentelor SRA şi descoperirea unor surse tisulare de renină, formatoare de angiotensine biologic active asupra receptorilor specifici din ţesuturile şi organele respective. Graţie acestor achiziţii s-a ajuns la elaborarea unor noi teorii şi concepte fiziopatologice privind participarea SRA circulant şi tisular la producerea unor stări patologice şi la îmbogăţirea arsenalului lor terapeutic cu noi substanţe medicamentoase.

Lucrarea monografică „Sistemul renină - angiotensină – de la experiment la clinică" încearcă să ofere o idee de ansamblu asupra stadiului actual al cunoştinţelor teoretice şi practice referitoare la acţiunile fiziologice şi implicaţiile patologice ale SRA circulant şi tisular, prin prisma datelor din literatură şi a experimentelor personale. Datele de biochimie şi fizio-farmacologie ale SRA circulant de origine renală sunt întregite de principalele cunoştinţe actuale privind prezenţa şi rolul componentelor SRA în diferite ţesuturi şi organe începând cu cordul şi vasele şi sfârşind cu sistemul nervos central, complexul hipotalamo-hipofizo-suprarenalian şi aparatul reproductiv. La rândul lor, datele referitoare la SRA alternant de origine extrarenală sunt completate de rezultatele cercetărilor clinico-experimentale care au dus la descoperirea unor noi mecanisme etiopatogenice şi la utilizarea inhibitorilor enzimei de conversie şi a blocanţilor receptorilor angiotensinici în tratamentul bolilor cardiovasculare. Ca exemplu este dat cazul implicaţiilor SRA din cord şi vase în etiopatogenia şi terapia insuficienţei cardiace, infarctului miocardic şi hipertensiunii arteriale.

Materialul expus, deşi este inegal tratat, sperăm să satisfacă exigenţele tuturor celor interesaţi de progresele teoretice şi practice din domeniul SRA circulant şi tisular, ca sistem hormonal unitar.

Autorii

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

Cuvânt înainte 5
Cuprins 7
Abrevieri folosite în text 11

1. Biochimia sistemului renină-angiotensină (Gheorghe Petrescu) 15

1.1. Renina 15
1.1.1. Structura reninei 15
1.1.2. Sinteza şi secreţia de renină 16
1.1.3. Proprietăţile enzimatice ale reninei 20
1.1.4. Metabolismul reninei 24
1.1.5. Reglarea secreţiei de renină 26
1.1.6. Evaluarea activităţii reninei 77
1.1.7. Inhibitori ai reninei 85
1.2. Angiotensinogenul – substratul reninei 88
1.2.1. Metabolismul angiotensinogenului 92
1.2.2. Metode de evaluare a angiotensinogenului 94
1.3. Angiotensinele 96
1.3.1. Angiotensina I 97
1.3.2. Angiotensina II 98
1.3.3. Angiotensina III 99
1.3.4. Angiotensina IV 99
1.3.5. Metabolismul angiotensinelor 100
1.3.6. Receptorii angiotensinergici 103
1.3.7. Mecanismul molecular de internalizare a receptorilor angiotensinergici 110
1.3.8. Determinarea angiotensinei plasmatice 111
1.4. Enzima de conversie 113
1.5. Angiotensinazele 117
1.5.1. Aminopeptidazele 119
1.5.2. Endopeptidazele 119
1.5.3. Carboxipeptidazele 120
1.5.4. Alte posibilităţi de metabolizare a angiotensinelor 120
1.6. Reglarea metabolismului angiotensinelor 121
Bibliografie 121

2. Sistemul renină-angiotensină circulant (Gheorghe Petrescu) 141

2.1. Aspecte ale evoluţiei filogenetice a sistemului renină-angiotensină 141
2.2. Semnificaţii ale evoluţiei ontogenetice a SRA 145
2.3. Implicaţiile fiziologice ale sistemului renină-angiotensină 153
2.3.1. Efectele angiotensinelor la nivel cardiac 153
2.3.2. Acţiunea angiotensinei asupra patului vascular 156
Bibliografie 222

3. Sistemul renină-angiotensină intrarenal (Gheorghe Petrescu) 235

3.1. Componentele SRA la nivelul rinichiului 235

Scanned with OKEN Scanner

3.2. Receptori angiotensinergici intrarenali 242
3.2.1. Reglarea receptorilor intrarenali pentru angiotensină 243
3.3. Mecanismul intracelular de traducere a interacţiunii angiotensinei II cu receptorii săi specifici la nivelul rinichiului 244
3.4. Implicarea SRA intrarenal în economia funcţională a rinichiului 246
3.4.1. Acţiunile hemodinamice renale ale angiotensinelor 247
3.4.2. Acţiunile tubulare ale sistemului renină-angitensină 254
3.5. Interrelaţii dintre SRA şi alţi factori biologici activi cu implicaţii în fiziologia rinichiului 265
Bibliografie 270

4. Implicaţiile SRA în fiziologia glandei suprarenale (Gheorghe Petrescu) 279

4.1. Particularităţi morfofuncţionale ale glandei suprarenale 279
4.2. Biosinteza aldosteronului 281
4.3. Efectele biologice ale aldosteronului 284
4.4. Reglarea secreţiei de aldosteron 287
4.4.1. Sistemul renină-angiotensină – factor primar de stimulare a secreţiei de aldosteron 288
4.4.2. Alte posibilităţi de stimulare hormonală a secreţiei de aldosteron 301
4.5 Tulburări ale mecanismului de funcţionare a sistemului renină-angiotensină aldosteron 304
4.5.1. Hiperaldosteronismul primar 305
4.5.2. Hiperaldosteronismul primar hipokalemic 306
4.5.3. Hiperaldosteronismul primar normokalemic 306
4.5.4. Hiperaldosteronismul idiopatic 307
4.5.5. Hiperaldosteronismul secundar 308
4.6. Medulosuprarenala şi sistemul renină-angiotensină 314
Bibliografie 318

5. Căi alternante ale sistemului renină-angiotensină (Ion Haulică) 323

5.1. Enzime extrarenale angiotensin-formatoare 326
5.1.1. Enzime renin-like tisulare 326
5.1.2. Enzima de conversie 328
5.1.3. Chimaza 330
5.2. Angiotensine şi angiotensinaze tisulare 331
5.3. Receptorii angiotensinici tisulari 334
5.4. SRA din cord şi vase 338
5.4.1. Sistemul renină-angiotensină cardiac 339
5.4.2. Angiotensinogenul 340
5.4.3. Enzima de conversie cardiacă 341
5.4.4. Chimaza 343
5.4.5. Acţiunile cardiace ale angiotensinelor 344
5.5. SRA vascular 345
5.5.1. Renina vasculară 345
5.5.2. Enzima de conversie 346
5.6. SRA din creier şi glandele anexe endocraniene 351
5.6.1. SRA cerebral 351
5.6.2. SRA hipofizar 360

Scanned with OKEN Scanner

5.6.3. SRA pineal 364
5.7. SRA corticosuprarenal 366
5.7.1. SRA medulosuprarenal 368
5.8. SRA salivar 370
5.9. Sistemul renină-angiotensină circulant şi tisular ca sistem hormonal unitar 371
5.10. SRA al tractului reproductiv (Mihai Pricop) 374
5.10.1. SRA ovarian 374
5.10.2. Rolul SRA la nivelul ovarului 376
5.10.3 Componentele SRA utero-placentar 378
5.10.4. SRA fetal 380
5.10.5. SRA în sarcina normală 381
5.10.6. Rolul SRA şi echilibrul hidro-electrolitic în sarcină 382
5.10.7. SRA în reglarea circulaţiei în sarcină 383
5.11. SRA în testicul şi epididim 394
Bibliografie 396

6. Sistemul renină-angiotensină în patologia cardio-vasculară (Radu Cristodorescu) 405

6.1. Sistemul renină-angiotensină-aldosteron în insuficienţa cardiacă 406
6.1.1. Definiţia insuficienţei cardiace 406
6.1.2. Evoluţia concepţiilor în IC şi implicaţiile conceptului neurohormonal actual 408
6.1.3. Sistemul renină-angiotensină-aldosteron circulant şi tisular în insuficienţa cardiacă 411
6.2. Sistemul renină-angiotensină în hipertensiunea arterială 459
6.2.1. Efectul direct al SRA în HA 461
6.2.2. Efectul contributiv al SRA în HA esenţială 462
6.2.3. Remodelarea arterială în hipertensiune 464
6.2.4. Aplicaţii clinice ale SRA în evaluarea şi diagnosticul HA 469
6.2.5. SRA şi terapia antihipertensivă 471
6.3. Terapia cu IECA în prevenirea progresiei aterosclerozei şi a complicaţiilor: indicaţii probabile în viitorul apropiat 487
Bibliografie 490

7. Tendinţe actuale în studiul sistemului renină-angiotensină (Gheorghe Petrescu, Marcel Costuleanu) 497

7.1. Receptorii membranari şi rolul lor în translocarea şi internalizarea complexului angiotensină- receptor 497
7.2. Receptori intracelulari (nucleari) 508
7.3. Particularităţi tisulare ale captării şi internalizării proreninei, reninei şi angiotensinei circulante 510
7.4. Mecanisme de acţiune intracelulară (intracrină) ale angiotensinelor 514
Bibliografie 525

Rezumat 529
Summary 531
Contents 535

Scanned with OKEN Scanner

Abrevieri folosite în text

ACE	- Enzima de conversie Ang I -Ang II
ACTH	- Hormonul adrenocorticotrop
ADH	- Hormonul antidiuretic
ADM	- Adrenomedulină
Ang I	- Angiotensina I
Ang II	– Angiotensina II
AJG	- Aparatul juxtaglomerular
ANF	- Atrial Natriuretic Factor
Aogen	- Angiotensinogen
AP	- Aria Postrema
Ar	- Arestină
ARA	- Antagoniştii receptorilor A II
ARP	- Activitatea reninei plasmatice
ATRAP	- Proteina asociată receptorului AT_1
AVC	- Accident vascular cerebral
AVP	- Arginin vasopresina
AV3V	- Regiunea anteroventrală a ventriculului al treilea cerebral
BAEC	- Celule endoteliale aortice bovine
BDB	- Banda diagonală Broca
BK	- Bradikinină
CGMP	- Guanozin monofosfat ciclic
CI	- Cardiopatie ischemică
CMD	- Cardiomiopatie dilatativă
CNVLB	- Porţiunea caudală a nucleului ventrolateral bulbar;
CUG	- Coeficient de ultrafiltrare glomerulară
DAG	- Diacil glicerol
DC	- Debitul cardiac
Din	- Dinamină
DOC	- Deoxi-corticosteron
DTT	- Ditiotreitol
E	- Endoteline
ECA	- Enzima de conversie a Ang I
EM	- Eminenţa mediană
FDA	- Food and Drug Administration
FE	- Fracţia de ejecţie
FEVS	- Fracţia de ejecţie a ventriculului stâng

Scanned with OKEN Scanner

FG	- Filtratul glomerular
FGF	- Factorul de creştere fibroblastic
FITC	- Izotiocianat de fluoresceină
FNTα	- Factorul necrotic tumoral alfa
GABA	- Acidul gamaaminobutiric
HA	- Hipertensiune arterială
HAE	- Hipertensiune arterială esenţială
HRV	- Hipertensiune renovasculară
HUVEC	- Celule endoteliale venoase ombilicale umane
HVS	- Hipertrofie ventriculară stângă
IC	- Insuficienţă cardiacă
IL-6	- Interleukina-6
IM	- Infarct miocardic
IMA	- Infarct miocardic acut
IECA	- Inhibitorii enzimei de conversie a Ang I
IP3	- Inozitol trifosfat
ISDN	- Isosorbid dinitrat
JNC	- Joint National Committee
LC	- Locus coeruleus
LH	- Hormon luteinizant
LHA	- Aria hipotalamică laterală
LHRH	- Factorul de eliberare a hormonului luteinizant
L-PIA	- L-izopropiladenozină
LPM	- Lobul posterior hipofizar
L-NMMA	- N-monometil-L-arginină
MAPK	- Mitogen-Activated Protein Kinase
MS – DBB	- Regiunea medială a benzii diagonale septale a lui Broca
MSH	- Hormonul melanocito-stimulator
NE	- Norepinefrină
NECA	- 5-N–etilcarboxamid adenozină
NH	- Neurohormonal
NMPe	- Nucleul median preoptic
NPB	- Nucleul parabrahial
NPH	- Nucleul paraventricular hipotalamic;
NPY	- Neuropeptidul Y
NO	- Oxid nitric
NTS	- Nucleul tractului solitar
NYHA	- New York Heart Association
OVLT	- Organul vascular al laminei terminale
OSF	- Organul subfornical
Ov	- Ovalbumină

Scanned with OKEN Scanner

P III NP	- Procolagen Type Aminoterminal Peptide
PA	- Presiune arterială
PAH	- Acid paraamino hipuric
PAI-1	- Plasminogen activator inhibitor 1
PAMP	- Proadrenomedulin peptid
PDGF	- Factorul de creştere derivat din plachete
PG	- Prostaglandine
pE	- preeclampsie
PKA	- Protein kinaza A
PKC	- Protein kinaza C
PNA	- Peptidul natriuretic atrial
POMC	- Proopiomelanocortina
PTHrP	- Peptidul legat de hormonul paratiroidian
PVN	- Nucleul hipotalamic paraventricular
SFO	- Organul subfornical
SON	- Nucleul hipotalamic supraoptic
SRA	- Sistemul renină-angiotensină
SRAA	- Sistemul renină-angiotensină-aldosteron
TA	- Tensiune arterială
TGF	- Factorul de creştere tumoral
TR	- Texas Red
VIP	- Peptidul vasoactiv intestinal
VS	- Ventriculul stâng
WHO/ISH	- World Health Organization / International Society of Hypertension
ZPN	- Interneuroni din zona perinucleară

Scanned with OKEN Scanner

1. BIOCHIMIA SISTEMULUI RENINĂ-ANGIOTENSINĂ

În cei 100 de ani care au trecut de la etichetarea substanței presoare din extractul renal sub numele de renină [590] s-a acumulat un număr covârșitor de date experimentale și observații clinice, care au precizat că aceasta reprezintă doar veriga inițială a unui complex lanț de procese biochimice pe parcursul căruia se generează constituenți cu diverse acțiuni biologice.

Distribuția, structura chimică, metabolismul și acțiunile principalilor constituenți ai sistemului renină-angiotensină, deși în general sunt stabilite, noi și noi date scot în continuare în evidență complexitatea structurală a sistemului și a implicațiilor sale fiziologice și patologice.

Trecerea în revistă, în mod analitic, a fiecărui element component al sistemului renină-angiotensină sistemic oferă cadrul de evaluare a etapei actuale de cunoaștere în acest domeniu.

1.1. RENINA

Natura chimică și caracterizarea reninei au rămas în obscuritate o perioadă îndelungată de timp, după semnalările realizate de Tigerstedt și Bergman [590]. Nici clasicele experiențe realizate de Goldblatt [591], de producere a hipertensiunii renale nu au soluționat mecanismul de intervenție al reninei care era în continuare considerată ca hormon.

Obținerea unor preparate din ce în ce mai pure de renină a oferit pista unor cercetări prin care această substanță este considerată ca având acțiune enzimatică și nu comportament hormonal, iar evidențierea angiotensinelor ca produs al acțiunii sale enzimatice [1,2] a constituit fundamentul pentru dezvoltarea viitoarelor cercetări legate de sistemul renină–angiotensină.

1.1.1. STRUCTURA RENINEI

Deși recunoscută ca peptidază, renina nu îndeplinește condițiile generale caracteristice enzimelor proteolitice. Totuși, inhibarea activității reninei de inactivatori ai aspartil proteazelor a oferit fără echivoc dovada că aceasta face parte din familia acid aspartil proteazelor [3,4,5] cu mare specificitate de substrat, limitată la om la scindarea legăturii peptidice leucil-valil sau leucil-leucil la alte mamifere.

Scanned with OKEN Scanner

Renina este deci o enzimă proteolitică de natură glicoproteică, cu greutate moleculară de 42 000 Da, secretată nu numai de celulele mioepiteliale din structura aparatului juxtaglomerular (AJG) renal, cum s-a crezut inițial, ci și de numeroase alte celule extrarenale.

Structura reninei a fost stabilită mai întâi pe eșantioane înalt purificate de renină din glanda submandibulară de șoarece [6], iar secvența acizilor aminați a fost dedusă pe baza secvenței cADN-ului [7,8]. Utilizându-se ca probe de referință cADN–ul preproreninei de șoarece au fost clonate și cADN–ul corespunzător de la om [9, 10] și șobolan [11]. După procesul de post–translație al preproreninei au loc reacții de conversie succesivă a acesteia în prorenina inactivă și apoi în renina activă.

1.1.2. SINTEZA ȘI SECREȚIA DE RENINĂ

Renina este sintetizată și secretată în rinichi de către un grup limitat de celule specializate (celule epitelioide) situate în media vaselor de rezistență din constituția aparatului juxtaglomerular (AJG). Barajas [12] a extins conceptul de AJG descris de Goormaghtigh [594]. Astfel, în concepția lui Goormaghtigh acesta ar fi alcătuit din porțiunea distală a arteriolei aferente și proximală a arteriolei eferente, macula densa și lacis (figura 1.1.).

Argumentând experimental, Barajas susține că atât din punct de vedere morfologic, dar mai ales funcțional, în alcătuirea AJG trebuie inclus și mesangiumul intraglomerular care continuă câmpul celular mesangial de la nivelul lacisului.

Numărul celulelor granulare din peretele arteriolei aferente, conținătoare de renină, este diferit de la o specie animală la alta, fără a se putea face o legătură cu semnificația funcțională a sistemului renină–angiotensină (SRA) la speciile respective sau cu diferențele variabilelor homeostatice asociate cu statusul reninic la animalele respective. Nu numai atât, la aceeași specie (șoarece) răspândirea celulelor mioepiteliale conținătoare de renină de-a lungul arteriolelor aferente este diferită. Unele arteriole aferente posedă celule granulare numai în aria juxtaglomerulară, la altele nu pot fi evidențiate astfel de celule, în schimb unele arteriole au celule renin–pozitive la o distanță mare de glomerul. Dar, în afara acestui aspect static s-a observat o variabilitate foarte mare legată de prezența celulelor renin–pozitive de-a lungul unei arteriole aferente în funcție de nivelul de activare a SRA și de variați stimuli ai secreției de renină.

Granule renin–pozitive au fost descrise și în peretele arteriolei eferente [13] și chiar al tubulului proximal [14], semnificația prezenței lor fiind interpretată în mod diferit. La nivelul mediei arteriolei aferente s-a descris fenomenul de metaplastie în sensul că celulele musculare netede prezente în porțiunea proximală a acestui vas se pot transforma în celule producătoare

Scanned with OKEN Scanner

de renină în condițiile stimulării intense a SRA și să se reconvertească în celule musculare netede caracteristice arteriolelor de rezistență când stimulii dispar [15, 16, 17].

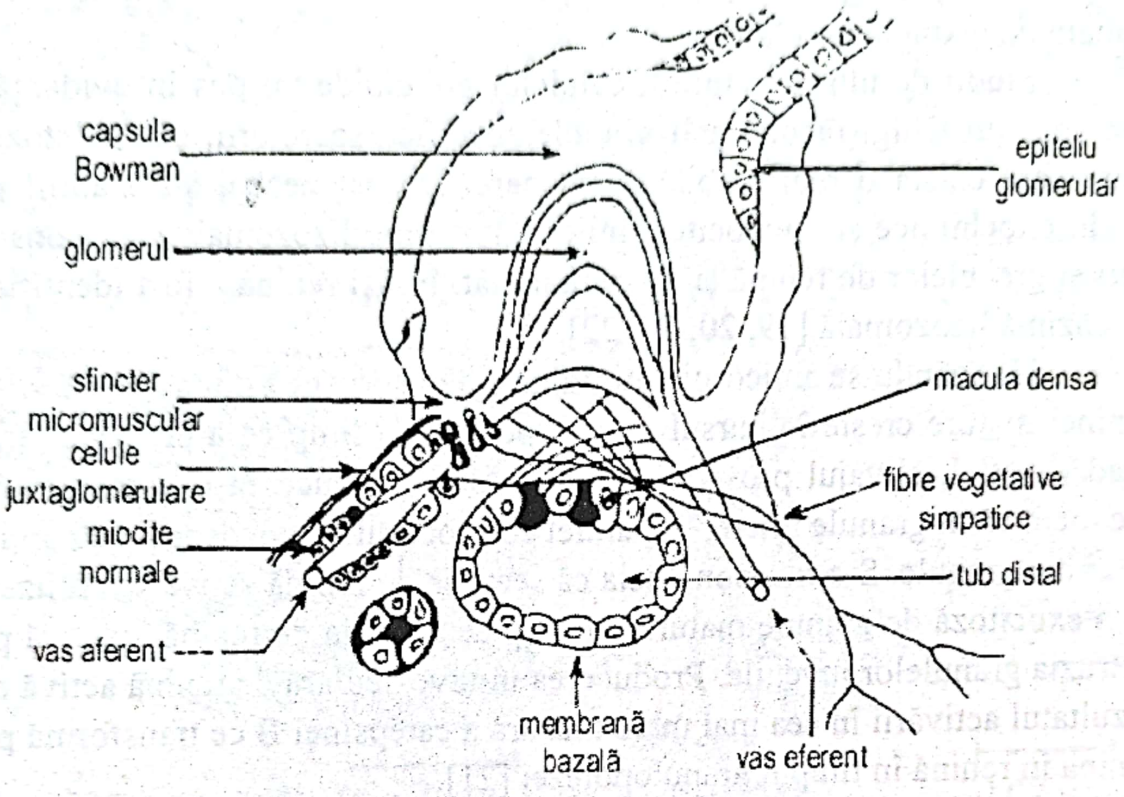


Figura 1.1. Structura aparatului juxtaglomerular.

Studii microscopelectronice au pus în evidență în aceste celule epiteloide juxtaglomerulare din peretele arteriolei aferente granule sferice mari dens electronice la periferia celulei (0,1 μm de la suprafața celulară), în timp ce protogranulele sau granule intermediare au fost identificate la nivelul complexului Golgi. Cisternele reticulului endoplasmic rugos au fost evidențiate cu zona amorfă internă la periferia celulei și în apropierea granulelor mature [12, 18].

Evoluția granulelor secretorii din celulele epiteloide juxtaglomerulare a fost descrisă pentru prima dată de Barajas [12], care a arătat că acestea apar ca protogranule care se desprind din cisternele golgiene. Protogranulele reprezintă primul stadiu al granulopoiezei, au forma romboidă sau fuziformă, structură paracristalină, ce reacționează cu anticorpii antirenină. Pentru aceste motive se consideră că substanța paracristalină din granule ar reprezenta prorenina. Granulopoieza trece printr-o serie de stadii intermediare în care au loc procese de fuziune între protogranulele fuziforme, urmată

inv. 154574

Scanned with OKEN Scanner

de coalescența conținutului lor paracristalin. Fuziunea repetată a granulelor tinere paracristaline poate duce la apariția unor granule polimorfe cu un conținut dens electronomicroscopic care mai conțin substructuri paracristaline (figura 1.2.). De altfel, în condițiile de stimulare a sintezei de renină conținutul în protogranule și granule polimorfe crește foarte mult în celulele epiteloide juxtaglomerulare.

Studii de ultrastructură a celulelor epiteloide au pus în evidență că din aparatul Golgi rezultă atât granule specifice secretorii, cât și lizozomi între care există o remarcabilă asemănare. De asemenea, s-a stabilit prin studii citochimice și imunocitochimice că enzime lizozomale sunt constituenți ai granulelor de renină și nu numai atât, însăși renina a fost identificată ca enzimă lizozomală [19, 20, 21, 22].

Utilizându-se anticorpi antirenină s-a observat că imuno-reactivitatea reninei mature crește în cursul granulopoiezei în timp ce a prosegmentului scade. Astfel, clivajul prosegmentului și deci producerea de renină activă are loc încă în granule tinere, în paralel cu procesul de condensare a conținutului din granule. S-a tras concluzia că secreția de renină activă se realizează prin exocitoză de granule mature, în timp ce secreția de renină inactivă prin extruzia granulelor juvenile. Producerea intraveziculară de renină activă este rezultatul activării în cea mai mare măsură a catepsinei B ce transformă prorenina în renină în timpul granulopoiezei [21].

Renina ar putea ajunge în spațiul extracelular cel puțin pe trei căi [23]:

– exocitoza granulelor mature;
– proces lizozomal–dependent;
– solubilizarea intracitoplasmatică a reninei din depozite.

Utilizarea conjunctă a progresului din diferite domenii biochimice (afinitatea cromatografică, noi metode de evaluare a reninei, evidențierea a noi proteaze inhibitoare și descoperirea pepstatinului) a făcut posibil ca începând cu anul 1960 să se acumuleze noi cunoștințe în vederea izolării și caracterizării formelor de renină pură și stabilă. Ca urmare a acestor studii se cunosc astăzi structura reninei și a situsurilor sale active, precursorii reninei și reglarea expresiei lor genice și în același timp recomandarea unor inhibitori reninici ca agenți terapeutici.

Primele preparate pure de renină au fost obținute din extractele de glande submandibulare de șoarece, întrucât extractele renale conțin cantități reduse de renină și în același timp contaminate cu alte tipuri de proteaze cum ar fi catepsina D.

Scanned with OKEN Scanner

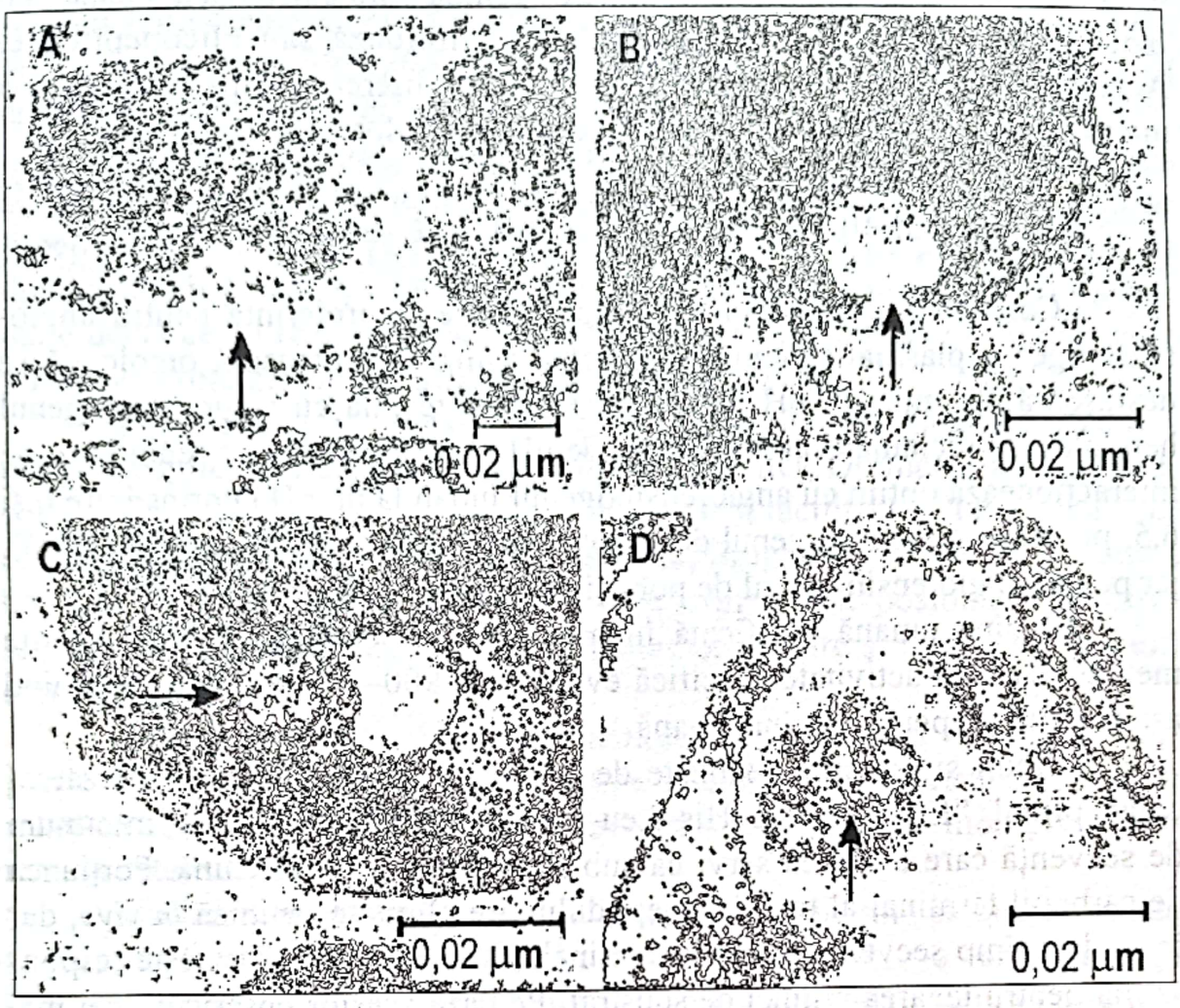


Figura 1.2. Etapele de constituire a granulelor conținătoare de renină la nivelul celulelor mioepiteliale juxtaglomerulare [modificat după 327].

Utilizarea pepstatinului şi mai recent a compusului H–77, care sunt inhibitori ai reninei, dar mai ales ai anticorpilor monoclonali antirenină cuplată cu separarea pe gel–sefaroză, a permis separarea reninei din rândul proteazelor renale şi obţinerea de renină pură [24, 25, 26]. Fritz şi colab. [27] şi Poorman şi colab. [28] au izolat mari cantităţi de renină din diferite ţesuturi după stabilirea expresiei ARN–ului mesager al reninei. Plasmidele utilizate în obţinerea mARN–ului specific encodează pentru sinteza de proprerenină, prerenina şi renina pură putând fi astfel obţinute cu ajutorul unor enzime proteolitice. Obţinerea acestor preparate a dat posibilitatea cristalizării reninei active şi ca urmare a fost posibilă determinarea structurii sale tridimensionale [29].

S-a observat că monomerul de renină este o glicoproteină cu greutate moleculară variind între 36 000 Da şi 40 000 Da, cu excepţia reninei din glanda submandibulară de şoarece care nu este o glicoproteină.

Scanned with OKEN Scanner

S-a observat în unele preparate de renină pură existența a 3 până la 6 izoenzime care nu sunt afectate de neuraminidază sau glicopeptidaze. Aceste observații au scos în evidență faptul că diferențele apar ca urmare a microheterogenității încărcării electrice a reziduurilor aminoacidice.

1.1.3. PROPRIETĂȚILE ENZIMATICE ALE RENINEI

Caracteristica reacției renină–substrat este preferința pentru angiotensinogenul plasmatic omolog. Reacția renină–angiotensină omoloagă se desfășoară optimum la pH neutru, în timp ce reacția cu angiotensinogenul heterolog nu reclamă această valoare de pH. Astfel, în timp ce renina umană interacționează optim cu angiotensinogenul uman la un pH cuprins între 6 și 6,5, pentru angiotensinogenul de șobolan este necesar un pH acid (5,0–5,5), iar pentru angiotensinogenul de porc și capră este necesar un pH 8 [30].

Renina umană purificată în mai multe laboratoare și prin diferite metode prezintă activitate specifică evaluată la 900–1 000 u.i/mg, devenind astfel standard pentru renina umană.

Studii sistematice realizate de Skeggs și colab. [31] au precizat că octapeptidul "His–Pro–Phe–His–Leu–Leu–Val–Tyr" reprezintă minimum de secvență care ar putea servi ca substrat efectiv pentru renină. Porțiunea de carbonil terminal al tetradecapeptidului are afinitate reninică *in vivo*, dar în același timp secvența carboxi–terminală, Leu–Leu–Val–Tyr, este responsabilă pentru legarea reninei de substrat. Pe baza acestor observații, cei mai mulți inhibitori sintetici ai reninei folosiți ca agenți terapeutici au în structură regiunea terminală carbonil cu unele extensii în această direcție.

Reacția renină–substrat este dependentă de specia de la care s-a obținut această macromoleculă. Renina umană este capabilă să scindeze angiotensinogenul uman, porcin, canin, bovin și de capră în timp ce renina de la subprimate scindează redus angiotensinogenul uman. Selectivitatea dependentă de specie pentru angiotensinogen este în funcție de secvența aminoacizilor din pozițiile 11–14.

După obținerea reninei în stare purificată a fost posibilă determinarea secvenței aminoacizilor din moleculele de proprerenină, prerenină și renină activă [32, 33]. Proprerenina este transformată în prerenină prin ruperea legăturii peptidice dintre glicină și leucină (Ser^{19}–$Cist^{20}$–Tyr^{21}–Phe^{22}–Gli^{23}–Leu^{24}–Pro^{25}), în timp ce renina activă apare ca urmare a hidrolizei legăturii între Arg^{66} și Leu^{67} [34, 35].

Blocarea activității reninei de către pepstatin a scos în evidență că această enzimă face parte din grupul proteazelor acide [36, 37]. Situsurile active ale reninei conțin cel puțin două reziduuri funcționale–tirozil care pot

Scanned with OKEN Scanner

fi parţial inactivate de pepsină. Faptul că atât renina, cât şi pepsina prezintă situsuri funcţionale identice a dus la concluzia că renina, ca şi pepsina, fac parte din grupul proteazelor acide al căror grup carboxil contribuie în mod esenţial în acţiunea lor catalitică.

Interrelaţiile strânse în cadrul mecanismului de acţiune a reninei şi a altor proteaze acide sunt reliefate şi de faptul că unele dintre acestea, cum ar fi pepsina şi catepsina, pot genera Ang I [38, 39]. Diferite ţesuturi şi lichide din organism pot conţine astfel de proteaze acide în concentraţie mult mai mare decât cea a reninei, de aceea aceste enzime pot contribui în mod semnificativ la realizarea unei activităţi renin–like *in vitro*.

După obţinerea preparatelor de renină pură a fost posibilă producerea anticorpilor policlonali şi monoclonali specifici. Obţinerea acestor anticorpi cu înaltă afinitate şi la un titru ridicat a fost facilitată de realizarea unor conjugate renină–proteină cu toxină tetanică, tiroglobulină bovină, albumină bovină etc. Prin intermediul acestor anticorpi a fost posibilă localizarea reninei imunohistochimic în celulele juxtaglomerulare şi în diverse ţesuturi extrarenale.

Faptul că anticorpii specifici antirenină inhibă doar o anumită proporţie din activitatea renin–like din extractele din diferite ţesuturi scoate în relief că acestea conţin şi enzime renin–like reprezentate în mod preponderent de catepsina D.

Utilizarea anticorpilor specifici antirenină a permis stabilirea exactă a rolului şi locului SRA în controlul presiunii sanguine într-o varietate largă de circumstanţe. Anticorpii antirenină determină scăderea presiunii arteriale la câinii cu depleţie sodică, la cei cu hipertensiune de tip Goldblatt, la şobolanii cu hipertensiune spontană etc. Obţinerea anticorpilor specifici antirenină a deschis calea metodologiei de măsurare directă radioimunologică a reninei şi, în acelaşi timp, a scos în evidenţă existenţa unor diferenţe structurale între renina primatelor şi cea de la subprimate.

Renina sintetizată ca moleculă mare de proprerenină este eliberată în reticulul endoplasmic. Prorenina poate fi eliberată apoi în citoplasmă sau poate fi activată enzimatic intracelular în renină activă care va fi depozitată sub formă de granule. Mecanismul enzimatic care îndepărtează fragmentul de propeptid este controversat. Astfel, unii autori consideră catepsina B care se află împreună cu renina în granulele de secreţie [40] drept candidat major al activării reninei [41], iar Kim şi colab. [42] vorbeşte despre o enzimă de conversie a proreninei la nivelul glandei submaxilare de şoarece şi care face parte din grupul serinproteazelor.

Prorenina se găseşte în plasma sanguină umană în concentraţie de 10×10^{-12} mol/l [43]. Cea mai mare parte a reninei din plasma sanguină umană se află sub formă de enzimă inactivă (prorenina). Aceasta se poate

Scanned with OKEN Scanner

transforma în renină activă în mediu acid, prin crioactivare sau în prezența unor proteaze. Prorenina plasmatică este atât de proveniență renală, cât și extrarenală, întrucât la subiecții nefrectomizați, deși renina este absentă, sau în cantități reduse, prorenina este prezentă în plasmă uneori în cantități similare celor de la subiecții indemni [44].

Deși discuțiile privind posibilitățile de activare în plasmă a proreninei sunt pline de controverse, Cybulsky și colab. [45] au arătat că extractele de neutrofile ar fi capabile să activeze prorenina plasmatică în timpul incubării *in vitro*, dar la pH 4 ca urmare a acțiunii catepsinei G, în timp ce alți autori presupun ca responsabili ai acestui efect catepsina B și elastaza [46], dar la pH neutru. Se crede că și kalikreina ar contribui la activarea proreninei renale și plasmatice [47, 48].

Prorenina conține un propeptid amino terminal cu 43 de acizi amina care poate fi detașat de restul moleculei de renină sub acțiunea unor enzime tripsin–like și astfel prorenina inactivă este convertită în renină activă. Ca și alte aspartilproteaze, renina este inhibată de pepstatin și este alcătuită din doi lobi separați printr-o fantă în care se află situsul activ al enzimei (figura 1.3.).

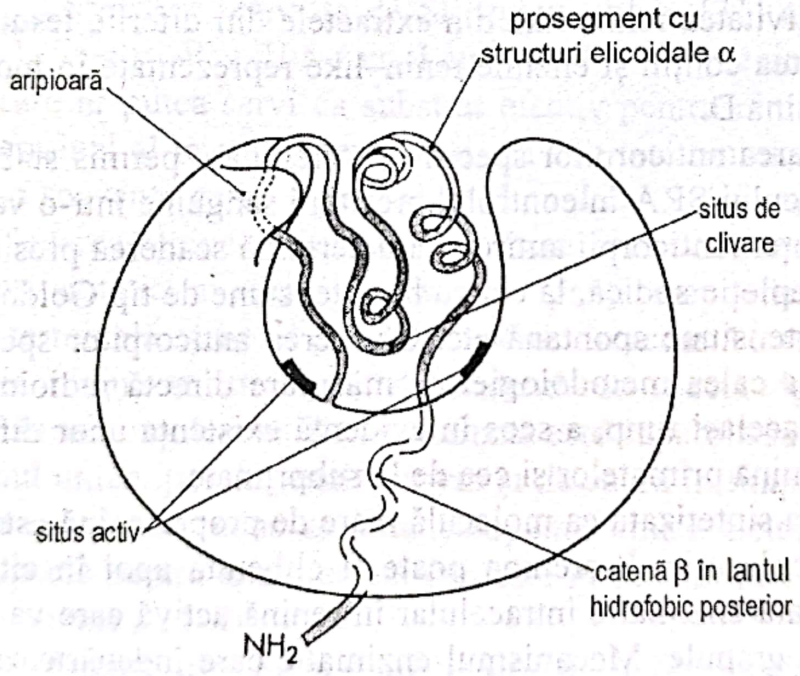


Figura 1.3. Structura tridimensională a proreninei umane [3].

Prorenina este menținută sub formă inactivă probabil în mod similar pepsinei datorită interacțiunilor electrostatice între grupările bazice reprezentate de arginină sau lizină și cele acide ale enzimei [49]. Aceste interacțiuni electrostatice între propeptidul proreninei și partea reninică a moleculei sunt implicate cel mai mult în activarea reversibilă a proreninei în timpul expunerii la pH scăzut.

Scanned with OKEN Scanner

Acidifierea protonizează grupările carboxil respective dând posibilitate de dislocare a propeptidului din fanta moleculei (figura 1.4.). Activarea acid-reversibilă a proreninei este stabilizată dacă renina are acces la substrat.

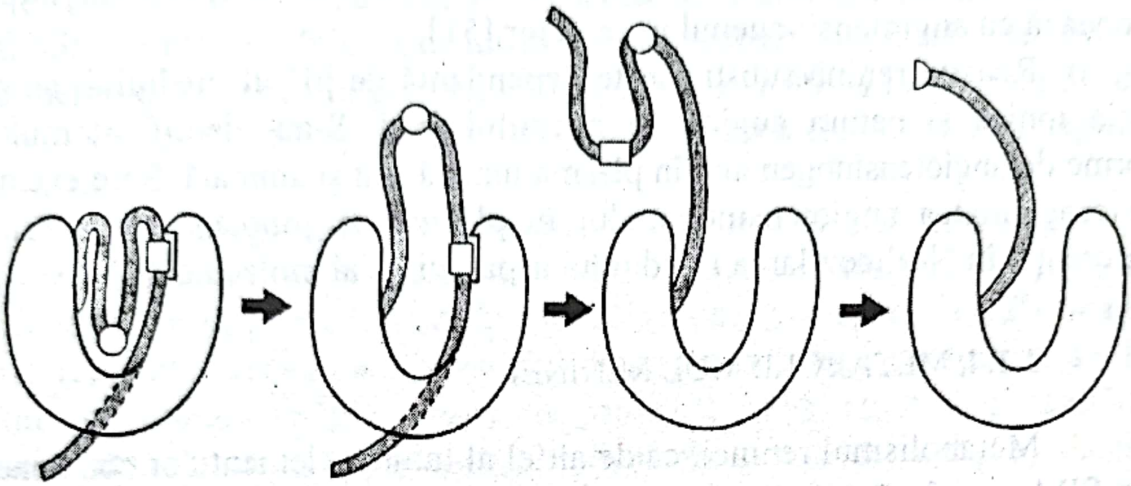


Figura 1.4. Reprezentarea etapelor ipotetice de activare a proreninei [44].

Altă modalitate de activare a proreninei s-ar realiza de către constituenții lipidici ai membranei celulare sau de receptori membranari care ar fixa propeptidul din prorenină producând astfel activarea reversibilă. Acest ultim mecanism ar fi valabil mai ales în cazul sistemelor izorenină–angiotensină tisulare, întrucât la acest nivel prorenina sintetizată nu este procesată în renină.

În sfârşit, activarea reversibilă ar putea avea loc în compartimentele intracelulare cu pH scăzut, cum ar fi granulele secretorii sau veziculele de endocitoză. Membrana acestor vezicule conține o pompă de protoni care produce o scădere a pH-ului intravezicular până la valori de 5–6. În acest mod prorenina recaptată de celule poate fi activată intracelular.

Singurul substrat natural cunoscut pentru renină este angiotensinogenul. Renina fiind considerată ca o enzimă cu specificitate deosebită, desface legătura peptidică dintre aminoacizii 10 şi 11 (leucină–valină pentru angiotensinogenul uman şi leucină–leucină la angiotensinogenul de la animalele nonprimate) din molecula de angiotensinogen. Orice modificare a moleculei în jurul situsului de clivaj împiedică fie interacțiunea reninei cu substratul, fie clivajul acestuia. Din molecula substratului doar ultimii opt acizi aminați (Pro^{7} .... Ser^{14}) sunt absolut necesari pentru ca renina să inițieze reacția de liză [50].

Scanned with OKEN Scanner

Rata de generare a Ang I de către renină variază de la o specie la alta datorită diferențelor în secvența acizilor aminați atât în molecula de renină, cât și de angiotensinogen. În fapt, atât renina umană, cât și de la alte specii de animale reacționează cu angiotensinogenul tuturor speciilor cu două excepții; renina umană degradează foarte lent angiotensinogenul de șobolan și nu interacționează cu cel de șoarece, iar renina altor specii nu interacționează cu angiotensinogenul primatelor [51].

Reacția renină-substrat este dependentă de pH-ul mediului, compoziția ionică și natura angiotensinogenului [52]. S-au identificat multiple forme de angiotensinogen atât în plasma umană, cât și animală. Spre exemplu, heterogenitatea angiotensinogenului în plasma de șobolan este rezultatul diferenței în N-glicozilarea reziduului asparaginic al moleculei [53].

1.1.4. METABOLISMUL RENINEI

Metabolismul reninei, ca de altfel al tuturor elementelor componente ale SRA, prezintă a importanță capitală în manifestarea sistemului respectiv în organism. Angiotensinogenul este hidrolizat de către renină și probabil de alte aspartilproteaze, iar Ang I astfel rezultată este supusă acțiunii hidrolitice a enzimei de conversie (ECA) sau alte peptidaze în vederea generării peptidelor biologic active care mediază acțiunile SRA. Mai mult, angiotensinogenul poate fi transformat de serinproteaze în vederea sintezei directe de Ang II. Posibilitatea activării extrarenale a proreninei are o importanță deosebită pentru activitatea SizoRA extrarenale. Studiile din ultimii ani au scos în evidență că țesuturile mai degrabă decât plasma sanguină reprezintă locul major de generare a angiotensinelor din angiotensinogen. Ca urmare a acestor observații se consideră astăzi că SRA tisular deține pondere mult mai mare decât SRA sistemic în metabolismul și acțiunile elementelor sale componente.

În plasma sanguină a subiecților sănătoși nivelul proreninei este de aproximativ 5-6 ori superior reninei active [54, 55]. Această observație a dus la concluzia că prorenina poate fi transformată în plasmă în renină activă, dar în același timp că aceasta poate fi metabolizată fără a fi convertită în renină activă.

Primele studii legate de metabolismul proreninei au fost realizate la animale binefrectomizate la care durata de înjumătățire a proreninei este de 120-140 de minute, în comparație cu renina care are o perioadă de înjumătățire de 30-80 de minute [56, 57]. Renina plasmatică este metabolizată în special la nivelul ficatului și rinichiului. Inițial, rata clearance-ului reninei plasmatice a fost estimată după binefrectomie la subiecți cu hipertensiune și

Scanned with OKEN Scanner

cu insuficienţă renală terminală sau la pacienţi cu hipertensiune arterială malignă după nefrectomie unilaterală. Cercetări ulterioare au urmărit timpul de înjumătăţire al reninei plasmatice determinând clearance-ul reninei marcate cu ^{125}I, a timpului de înjumătăţire al reninei plasmatice endogene sau după administrare intravenoasă la animale de experienţă intacte şi nefrectomizate. Datele obţinute au scos în evidenţă că ficatul are rol dominant în metabolismul reninei. Injectarea intravenoasă de renină marcată este urmată de reţinerea ei hepatică în proporţie de aproximativ 40 % în primele 30 de minute. Doar celulele Kupffer contribuie la realizarea clearance-ului hepatic al reninei.

Dintre multiplele forme de renină, doar renina A este metabolizată în mod similar atât la nivel hepatic, cât şi renal, în timp ce reninele B_1 şi B_2 se distribuie în mod predominant în ficat. Deglicozilarea reninei B_1 scade drastic reţinerea derivatului la nivelul ficatului şi creşte recaptarea sa la nivelul rinichiului. În acest mod se confirmă implicaţiile deglicozilării reninei pentru reţinerea hepatică şi rata clearance-ului ei hepatic [58]. Acest fapt este probabil rezultat al prezenţei pe suprafaţa celulelor hepatice a receptorilor hidrocarbonat specific. Glicozilarea diferitelor forme de renină pare să fie foarte heterogenă, ceea ce face ca o altă formă de renină (renina C) să aibă un clearance hepatic foarte scăzut.

Metabolismul diverselor componente ale SRA este deosebit de complex la nivelul rinichiului, în primul rând datorită faptului că acesta reprezintă principala sursă a reninei circulante, dar mai ales pentru că angiotensinele pot fi generate în acest organ. Degradarea renală a reninei locale, cât şi a celei circulante, ca şi a angiotensinelor este foarte activă şi, de asemenea, orice component al sistemului poate fi eliminat prin intermediul urinei. Renina poate fi deci prezentă şi în urină, fapt semnalat pentru prima dată în 1964 de Brown şi colab. [59] la subiecţi normali şi confirmat de Rappelliand şi Peart [60] după perfuzia intravenoasă de renină la şobolani anesteziaţi. Eliminarea urinară a reninei creşte foarte mult la aceste animale dacă se administrează clorură de mercur sau acid maleic şi nu este influenţată de furosemid. S-a sugerat astfel că în condiţii normale renina este filtrată la nivel glomerular şi reabsorbită în totalitate la nivelul tubului proximal. Aceste date experimentale au fost confirmate de observaţii clinice realizate la subiecţi normali şi cu disfuncţii renale. La persoane normale eliminările urinare de renină variază foarte mult de la un subiect la altul, dar îşi menţin nivelul individual luni de zile fără a putea fi corelate cu clearance-ul creatininei, proteinuria sau nivelul plasmatic al reninei. Dimpotrivă, la pacienţii cu disfuncţii tubulare proximale excreţia de renină este foarte crescută, fiind corelată cu clearance-ul renal al reninei şi al fluxului molecular al proteinelor filtrate şi reabsorbite.

Scanned with OKEN Scanner

Renina ajunge deci în urină ca urmare a filtrării la nivel glomerular şi apoi a metabolizării sau reabsorbţiei în porţiunea proximală a tubului urinifer şi probabil a trecerii sale în urină în tubul distal [61]. Cantitatea de renină eliminată prin urină fiind, în parte, în funcţie de nivelul său plasmatic şi probabil mai ales de rata de producere a ei la nivel renal.

Cantităţi mari de renină au fost găsite în faza oligurică la pacienţi cu insuficienţă renală acută şi au fost interpretate ca o reflectare a activării SRA intrarenal întrucât după dispariţia oliguriei cantitatea de renină excretată scade foarte mult.

Este evident deci că rinichiul participă la clearance-ul metabolic al reninei circulante prin prelucrarea acesteia atât la nivel glomerular, cât şi tubular. Ca orice altă proteină cu greutate mică, renina se filtrează din capilarele glomerulare şi apoi în cea mai mare parte este preluată de celulele epiteliului tubular proximal unde este metabolizată de către lizozomi. Este dificil de precizat, în etapa actuală a cunoştinţelor, incriminarea şi a altor segmente nefronale ca intervenind în metabolismul acestei substanţe.

1.1.5. REGLAREA SECREŢIEI DE RENINĂ

Renina a fost descoperită ca urmare a necesităţilor de înţelegere a modului de participare a rinichiului în patogenia diferitelor afecţiuni cardiovasculare. Cercetările ulterioare au precizat că această substanţă declanşează o serie de reacţii enzimatice generatoare de principii biologic active care acţionează nu numai la nivelul rinichiului, ci şi la nivelul altor aparate şi sisteme. Evidenţierea unor substanţe cu proprietăţi renin-like în diverse alte ţesuturi, dublată de fragilitatea intenţiilor de a găsi un paralelism între activitatea reninei plasmatice şi conţinutul în izorenină a acestor organe, au dus la concluzia că renina renală se secretă în funcţie de modificările hidrohemodinamice renale şi a mesajelor primite din organism, în timp ce nivelul local al izoreninelor tisulare este în funcţie de particularităţile fiziologice ale organelor respective.

Numeroase cercetări au stabilit că renina sintetizată este stocată în granulele celulelor mioepiteliale juxtaglomerulare, că astfel de granule se găsesc şi în celule din peretele arteriolei eferente şi în celulele mesangiale din glomerulul renal [110]. Există, de asemenea, un gradient corticomedular al repartiţiei celulelor granulare; cele mai ridicate concentraţii de renină se găsesc în partea externă a corticalei rinichiului.

1.1.5.1. TEORIA BARORECEPŢIEI

După experienţele realizate de Goldblatt, numeroşi alţi cercetători au tras concluzia că orice scădere la presiuni arteriale sistemice, deci şi în artera renală, determină creşterea activităţii reninei plasmatice în vederea re-

Scanned with OKEN Scanner

stabilirii nivelului normal al presiunii sanguine. Rinichiul reprezintă astfel o altă zonă din organism care poate sesiza variațiile presiunii arteriale și reacționează prin modificarea adecvată a secreției de renină. Astfel, încă din 1964, Skinner și colab. [68] au constatat că scăderea presiunii medii în artera renală, fără modificarea fluxului sanguin renal, stimulează eliberarea de renină. Se pot deci explica și circumstanțele în care hipersecreția de renină apare indiferent de modificările debitului renal. Perfuzând rinichiul izolat cu debit constant, autorii mai sus citați atribuie unui mecanism baroreceptor endogen sensibil la fluctuațiile presiunii medii din sistemul arterial, independent de presiunea diferențială și de debitul renal, responsabilitatea controlului secreției de renină. Celulele juxtaglomerulare ar acționa deci ca "stretch"-receptori care modifică rata secreției după starea de distensie a arteriolei aferente. Aceste celule ar putea percepe fie o modificare a presiunii intravasculare din arteriola aferentă, fie o alterare a gradientului de presiune transmural de-a lungul arteriolei determinată de modificări ale presiunii intravasculare sau a celei din interstițiul renal.

De asemenea, celulele epitelioide ar fi capabile să sesizeze modificări ale tensiunii peretelui arteriolei aferente prin alterarea fie a gradientului de presiune transmurală, fie a diametrului arteriolei, în acord cu legea lui Laplace [68].

Până în ultimii ani nu au existat date evidente care să susțină existența receptorilor intravasculari capabili să răspundă la modificările de întindere ale peretelui arterial. Blaine și colab. [595] au utilizat pentru verificarea ipotezei baroreceptoare câini suprarenalectomizați ai căror rinichi denervați aveau filtrarea blocată prin pensarea ureterelor (stop-flow). La un astfel de preparat, macula densa era deci scoasă din circuitul funcțional, iar îndepărtarea inervației renale, ca și suprarenalectomia, excludeau intervenția catecolaminelor. În lipsa filtrării glomerulare, nu există deci flux urinar care să vină în contact cu macula densa, așa încât hemoragia sau constricția aortei nu mai erau capabile să determine variații ale încărcării cu sodiu sau modificarea concentrației acestui ion în zona respectivă. S-a observat însă, că acești rinichi cu filtrarea blocată secretau o cantitate crescută de renină ca urmare a hemoragiei acute sau a constricției aortei deasupra originii arterelor renale.

Kolff [66] a arătat că secreția de substanță presoare renală ar putea fi crescută prin reducerea presiunii de perfuzie renală fără însă să observe diferențe în cursul perfuziei pulsatile sau nepulsatile. De asemenea, Skinner și colab., măsurând activitatea materialului vasoconstrictor în vena și artera renală în cursul constricției gradate a arterei aorte, nu au găsit o modificare a eliberării de renină ca urmare a reducerii presiunii pulsatile [66, 67]. Eliberarea de renină nu a fost stimulată nici atunci când presiunea pulsatilă a fost

Scanned with OKEN Scanner

virtual modificată prin efectul combinat al constricției aortei și vagotomiei. Realizându-se simultan scăderea presiunii medii și creșterea presiunii pulsatile, prin administrarea de blocante ganglionare și stimularea capătului periferic al nervului vag s-a obținut stimularea secreției de renină. Davis și colab. au observat o creștere a concentrației reninei în sângele venos renal și periferic în ciuda creșterii presiunii arteriale pulsatile din cursul insuficienței cardiace experimentale realizată prin fistulă arterio–venoasă [63]. Câinii respectivi prezentau însă o reducere a presiunii arteriale medii.

În aceste condiții se detașează net faptul că la nivelul rinichiului ar exista receptori specifici care răspund la variații ale presiunii arteriale medii, iar excluderea totală a intervenției variațiilor presiunii pulsatile, ca factor de reglare a secreției de renină, a fost confirmată și de rezultatele prin care s-a pus în evidență controlul reflex al secreției acestui hormon prin intermediul nervilor renali, rezultat prin stimularea zonelor reflexogene sinocarotidiene și endocardo-aortice [69, 70, 71, 72].

Concepția asupra existenței baroreceptorilor renali sensibili la variații ale presiunii medii a fost întrezărită cu mulți ani în urmă, însă Tobian a fundamentat-o pe baza unor date experimentale evidente [73, 74]. Acest cercetător a presupus că întrucât celulele juxtaglomerulare sunt localizate în media arteriolei aferente, acestea ar putea fi influențate de gradul de distensie (întindere) a peretelui arteriolar. În acest fel celulele juxtaglomerulare s-ar comporta ca "stretch receptori". Astfel, creșterea presiunii sanguine întinzând respectivele celule ar inhiba secreția de renină, în timp ce scăderea presiunii ar fi factor stimulator pentru eliberarea de renină. Absența răspunsului secretor ca urmare a variațiilor presiunii pulsatile este compatibilă cu această teorie întrucât pulsul arterial ar fi considerabil amortizat la nivelul aparatului juxtaglomerular.

Pentru a evalua teoria barorecepției este necesar mai întâi să se definească stimulul care ar putea fi detectat. Este evident că presiunea arterială *per se* nu poate fi acceptată, întrucât celulele juxtaglomerulare sunt localizate la nivel arteriolar și nu arterial.

Cele mai plauzibile variante de stimul ar fi următoarele:

– presiunea intravasculară din arteriola aferentă;
– presiunea transmurală în arteriola aferentă;
– tensiunea celulelor juxtaglomerulare.

Factorii care ar putea să modifice mărimea acestor trei stimuli posibili sunt următorii:

a. Presiunea sângelui arterial

O modificare a presiunii arteriale, care ar duce în mod evident la schimbări în direcții similare a presiunii intravasculare și a tensiunii peretelui arteriolar. Totuși, nu este necesar ca această situație să fie întrunită de

Scanned with OKEN Scanner

contră amplificată la nivelul celulelor juxtaglomerulare prin stimularea activă a tonusului arteriolei aferente.

b. Tonusul activ al arteriolei aferente

Este cunoscut faptul că presiunea de la nivelul celulelor juxtaglomerulare reflectă în mare parte activitatea celulelor musculare din peretele arteriolei aferente. Creşterea eliberării de renină spre exemplu, se acompaniază de scăderea presiunii arteriale (aşa cum se întâmplă în cursul privării de sodiu) şi nu poate prin ea însăşi să probeze teoria baroreceptorilor, întrucât ignoră modificările posibile de tonus ale arteriolei aferente. Constricţia arteriolei aferente ar putea avea un "stretch" efect asupra celulei granulare similar cu acela provocat de scăderea presiunii arteriale [75].

c. Presiunea interstiţială renală

Prin determinări directe s-a stabilit că presiunea din interstiţiul rinichiului rămâne relativ constantă în cursul a numeroase condiţii fiziologice, aşa încât presiunea transmurală va suferi variaţii direct proporţionale cu presiunea intravasculară. Totuşi, numeroase manevre experimentale utilizate în studiul eliberării reninei (diureză osmotică, ocluzie ureterală, ocluzia venei renale, insuficienţă cardiacă congestivă, pielonefrită etc.) pot induce creşteri evidente ale presiunii interstiţiale din rinichi şi astfel să scadă presiunea transmurală. Datorită dispoziţiei particulare a celulelor juxtaglomerulare, s-ar putea presupune că mai degrabă presiunea critică extravasculară ar fi modificată de variaţii ale presiunii intratubulare de la nivelul maculei densa decât de presiunea din interstiţiul renal. De fapt, aceste precizări au valoare mai mică întrucât este ştiut că atât presiunea intratubulară, cât şi cea din interstiţiul renal sunt egale [76, 77].

Numeroase alte variante experimentale au fost utilizate pentru individualizarea tipului de receptori localizaţi în peretele arteriolei aferente, şi mai ales pentru a contura mai precis natura stimulului ce acţionează la acest nivel.

1. Observaţii privind intervenţia hemoragiei şi a hipotensiunii sistemice

Modificările debitului sanguin renal se însoţesc de regulă de eliberarea uneia sau mai multora dintre substanţele biologic active intrarenale [78].

Hipotensiunea apărută ca urmare a hemoragiei acute determină creşterea secreţiei de renină la câine [79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86], şobolan [87] şi iepure [88]. De asemenea, hipotensiunea indusă prin injectare de histamină [80] sau manipularea intestinului subţire [86] stimulează secreţia reninei la câine, cum de altfel se observă şi la om în urma injectării de nitroprusiat [89]. Aceste date pledează în favoarea ambelor teorii, cât şi a eficacităţii baroreceptorilor maculari.

Scanned with OKEN Scanner

Brown şi colab. [81] au găsit că extravazarea a 500 ml de sânge la om (cantitate ce nu este capabilă să producă o scădere a presiunii arteriale) blochează efectul de creştere a eliberării de renină la subiecţii în decubitus dorsal. Din contră, Bunag şi colab. [91] au demonstrat că hemoragia lentă (15-20 ml/kg) produce o creştere a secreţiei de renină chiar în absenţa scăderii presiunii arteriale. Augmentarea secreţiei de renină poate fi însă prevenită sau substanţial redusă prin administrarea de tetraetilamoniu sau infiltraţia hilului renal cu lidocaină. Experimente similare au fost publicate de Hodge şi colab. care au avut drept parametru de studiu angiotensina plasmatică şi nu renina [90].

Ca fapt comun de constatare, în urma experienţelor respective, a rămas observaţia că la câini, hemoragia induce o creştere marcată a eliberării de renină, cu toate că presiunea arterială rămâne nemodificată sau se produce o neglijabilă reducere a ei şi că anestezia nervilor renali previne acest efect. Reiese deci clar că răspunsul reninic în aceste condiţii este mediat în mod cert de sistemul nervos simpatic.

A apărut în aceste circumstanţe întrebarea: nervii renali mediază direct eliberarea reninei sau amplifică semnalul perceput de celulele juxtaglomerulare sau maculare? Interpretarea acestor date ar fi posibilă dacă s-ar urmări simultan fluxul sanguin renal, fluxul filtrării glomerulare, excreţia de sodiu şi compoziţia lichidului intratubular.

Unele date experimentale scot în evidenţă că nervii renali pot juca un rol esenţial în hemoragia nehipotensivă [80, 86, 91]. Paladini şi Scornik au publicat însă rezultatul experienţelor în care au utilizat blocanţi ganglionari cu efect hipotensor fără însă ca secreţia de renină să fie modificată, iar Kaneko a observat că administrarea blocantelor ganglionare la om nu aboleşte răspunsul reninic la hipotensiunea indusă de nitroprusiat, ci doar îl reduce (citat de 92).

2.Efectul scăderii acute a presiunii arteriale în artera renală

Scăderea locală a presiunii arteriale la nivelul rinichiului poate fi realizată folosind mai multe tehnici: utilizarea unei pompe de perfuzie renală, constricţia parţială a aortei, introducerea în aortă a unui dispozitiv gonflabil până în apropierea arterei renale. Aceste procedee nu modifică presiunea arterială sistemică a animalului de experiment, reflexele cardiovasculare extrarenale care ar putea altera răspunsul receptorilor localizaţi în structura rinichiului sunt astfel îndepărtate.

Numeroase date experimentale au pus în evidenţă la câinii anesteziaţi o creştere a secreţiei de renină ca urmare a reducerii locale a presiunii sanguine [66, 67, 95, 96,97].

Astfel, Skinner şi colab. au precizat că receptorii aparatului juxtaglomerular sunt sensibili chiar la reduceri mici (10 mm Hg) ale presiunii arteriale renale [68].

Scanned with OKEN Scanner

Făcând apel la una din tehnicile menționate anterior, am urmărit rolul variațiilor presiunii sanguine în mecanismul de secreție a reninei în condițiile rinichiului de câine, izolat și perfuzat cu sânge homolog. Utilizarea unei astfel de tehnici, deși scoate rinichiul de sub orice influență nervoasă și umorală ce ar putea interveni în condițiile lucrului pe rinichi *in situ*, ridică numeroase probleme care ar putea denatura profund interpretarea rezultatelor. Trebuie semnalat chiar de la început că recoltarea sângelui necesar perfuziei acestui preparat trebuie realizată în asemenea condiții încât să se înlăture la maximum posibil acțiunea sa vasoconstrictoare. Nizet și colab. au precizat că aceste substanțe vasoconstrictoare sunt eliberate de hematii în condițiile unei agitări a sângelui, dar mai ales prin hemoliză [98]. Pentru a evita constricția renală, autorii respectivi au precizat că este necesar să se satisfacă următoarele condiții experimentale:

a. Perfuzia artificială trebuie să înceapă cu sânge heparinat, proaspăt, prelevat în mai puțin de 2 minute, timp în care hematiile nu au eliberat încă materialul vasoconstrictor, în așa măsură încât să provoace vasoconstricție renală semnificativă;
b. Cantitatea de sânge utilizat în sistemul pompă-oxigenator să nu depășească volumul ce ar putea trece în totalitate prin rinichi în decursul a 2 sau 3 minute. În acest fel, factorii vasoconstrictori eliberați, inevitabil, de hematii sunt neutralizați pe măsură ce sunt generați;
c. În sistemul pompă-oxigenator agitația sângelui trebuie să fie cât mai mică, în scopul de a reduce cât mai mult posibil eliberarea acestor factori vasoconstrictori.

Astfel realizate condițiile experimentale, am căutat să obținem o urină care nu corespunde unui simplu ultrafiltrat glomerular și în care raportul dintre concentrația urinară și cea plasmatică pentru K și uree să fie mai mare de 1, iar pentru glucoză subunitar.

Dispozitivul de perfuzie utilizat de noi are posibilitatea să regleze prin pompa sa volumul de sânge expulzat, iar pentru amortizarea șocurilor primite de sânge în timpul pompării am intercalat în circuit un sistem special cu pereți elastici. După pregătirea aparatului de perfuzie se recoltează rinichiul având în vedere că timpul de întrerupere a circulației sanguine prin rinichi să nu depășească 3 minute. Presiunea utilizată în mod obișnuit a fost între 110-120 mm Hg.

Experimentul a fost început de fiecare dată când debitul sanguin instalat era normal, apreciat a fi în jurul valorii rezultate în următorul calcul: $P \times 3,5 \times 2,5$, unde:

P = greutatea rinichiului;

3,5 = debitul sanguin normal/g de țesut renal/minut;

2,5 = timpul maxim cerut pentru ca toată masa sanguină să treacă o dată prin rinichi.

Scanned with OKEN Scanner

Activitatea reninei plasmatice în sângele recoltat din vena renală la presiunea de perfuzie de 120 mm Hg a avut valoarea de 29,55 ± 3,72 µg/l. Ridicarea nivelului presional în sistemul de perfuzie la 170 mm Hg este însoțită de scăderea ARP, în timp ce coborârea presiunii la 70 mm Hg a indus creşterea valorilor reninei.

De remarcat că atât efectul stimulator al hipotensiunii, cât şi cel inhibitor al presiunii sistemice crescute apare şi la rinichiul recoltat de la animalele tratate în prealabil cu rezerpină sau după introducerea ouabainei (0,3M) în sângele de perfuzie [72, 593].

În toate modelele experimentale prezentate pot fi incriminați drept receptori atât celulele juxtaglomerulare, cât şi cele din structura maculei densa, întrucât scăderea presiunii de perfuzie până la 90 mm Hg determină o scădere semnificativă atât a fluxului de filtrare glomerulară şi în mod invariabil reducerea excreției de sodiu [94, 97]. Se observă deci existența unei corelații inverse între excreția de sodiu şi concentrația reninei din sângele venos renal.

Pe fond de scădere a presiunii din artera renală şi creşterea încărcării cu sodiu a maculei densa, Vander şi Miller au administrat diferite diuretice osmotice (uree, manitol, clorotiazidă şi acetazolamidă) [94]. Toate aceste diuretice previn sau reduc la nivelul de bază creşterea nivelului secreției de renină. White a demonstrat că injecția de mercaptomerin sau introducerea direct în artera renală de NaCl (1M) ori soluție de sucroză, coboară eliberarea reninei de la nivele ridicate, realizate prin reducerea presiunii arteriale în rinichi [97]. Scăderea secreției de renină în aceste condiții nu este consecința efectului baroreceptor întrucât ea apare chiar atunci când presiunea în artera renală este de 80–90 mm Hg. Rămâne posibilitatea ca diureticele să intervină în mecanismul "stretch"-recepție, producând fie o dilatare a arteriolei aferente, fie o reducere a presiunii interstițiului renal. Există însă numeroase date care pun în evidență faptul că diureticele osmotice cresc presiunea interstițială renală [77, 99] şi scad presiunea transmurală a vaselor [99]. Deci, în acord cu teoria barorecepției aceste substanțe ar trebui mai degrabă să stimuleze secreția reninei decât să o scadă.

În legătură cu modificările tonusului arteriolei aferente, mai mulți cercetători au observat după administrarea diureticelor, apariția unui fenomen de vasodilatație. Totuşi, Vander a descris o suprimare a eliberării de renină în cursul diurezei osmotice fără modificări semnificative ale fluxului plasmatic renal, în timp ce presiunea de perfuzie s-a menținut la o valoare aproximativ constantă de 90 mm Hg [103].

Se pare că vasodilatația apare ca rezultat al unei reacții miogenice inițiată de reducerea presiunii vasculare transmurale, asociată la diureză osmotică [99, 100, 101]. Este de asemenea bine stabilit că reducerea presiunii

Scanned with OKEN Scanner

de perfuzie renală până la 80–90 mm Hg determină o vasodilatație miogenă maximală și că în aceste condiții creșterea presiunii interstițiale nu va permite un nou episod vasodilatator [102]. Ori, în condițiile presiunii de perfuzie de 80–90 mm Hg și diureză osmotică, s-a observat la câine o marcată reducere a fluxului plasmatic renal, probabil indusă de creșterea rezistenței venoase, ca urmare a sporirii presiunii tisulare [99]. Cu toată această reducere a fluxului plasmatic renal, acești autori au observat însă o scădere a secreției de renină.

Dacă ar fi să rezumăm rezultatele acestor date experimentale s-ar putea trage concluzia că diureticele osmotice inhibă eliberarea de renină prin reducerea presiunii în artera renală fără a se putea invoca modificări de hemodinamică constituind astfel un argument ce înlătură intervenția baroreceptorilor intrarenali în evoluția acestui proces. Din contră, aceste observații validează teoria maculei densa întrucât diureticele respective cresc încărcarea cu sodiu a celulelor tubulare din această regiune, în ciuda scăderii presiunii arteriale. Totuși, Vander a arătat că nu se poate îndepărta complet teoria baroreceptoare care ar fi mascată printr-un input inhibitor mai puternic la nivelul receptorilor maculari [103]. În acest sens se pot prezenta datele obținute de Tobian care a descris o degranulare a celulelor juxtaglomerulare la șobolani după două ore de perfuzie cu presiune ridicată [73].

În seria experiențelor ce tind să elucideze problema mecanismului secreției de renină se înscriu și cele ale grupului condus de Abe care au urmărit secreția de renină în paralel cu distribuția fluxului sanguin în zona corticală a rinichiului în condiții de variație a presiunii din artera renală [104].

Este cunoscut faptul că în condiții de perfuzie a rinichiului, la presiunea normală, fluxul sanguin este net diferit în partea externă față de zonele cele mai profunde ale corticalei. Reducerea presiunii de perfuzie la 100 mm Hg nu modifică fluxul sanguin în nici o regiune. Scăderea ei sub limitele de manifestare a fenomenului de autoreglare (75 mm Hg) determină modificări semnificative ale fluxului sanguin de-a lungul tuturor regiunilor corticale. Astfel, în timp ce în porțiunea externă fluxul sanguin scade profund, în zona corticală internă apar creșteri ale acestuia. Deci, între valori presionale de 100–75 mm Hg, deși există o redistribuție a debitului sanguin între diferitele porțiuni ale zonei corticale, fluxul sanguin urmărit per organ rămâne în limitele normale datorită fenomenului de autoreglare.

Activitatea reninei plasmatice, urmărită în sângele arterial și în cel recoltat din vena renală, rămâne relativ constantă în condiții de perfuzie a rinichiului la o presiune de 100 mm Hg, dar cunoaște o puternică creștere când scade presiunea din artera renală la 75 mm Hg. După 10 minute de la ridicarea constricției aortice rata de secreție a reninei revine la valorile de control.

Scanned with OKEN Scanner

Datele obținute de Abe și colab. [104] deși nu sunt în acord cu acelea publicate de Skinner și colab. [68], care arătaseră că eliberarea reninei se modifică chiar la reducerea presiunii doar cu 5–10 mm Hg, le confirmă pe acelea publicate de Fojas și Schmidt [105].

Faptul că modificările distribuției fluxului sanguin intrarenal se acompaniază de creșterea producției de renină doar la valori ale presiunii de perfuzie de 75 mm Hg, când totuși autoreglarea fluxului sanguin renal mai funcționează, sugerează existența unei interrelații între distribuția intrarenală a sângelui și eliberarea de renină.

Această părere este susținută și de distribuția inegală a reninei, care este în cantitate mai mare la periferia cortexului renal decât în zona juxtaglomerulară. Deci, în condițiile scăderii presiunii de perfuzie a rinichiului de la 100 la 75 mm Hg se produce ischemia zonelor corticale externe (bogate în renină), determinând o stimulare a secreției de renină [106]. În acest sens, Blaufox și colab. au arătat că în contextul hipertensiunii esențiale este importantă corelația care se stabilește între reducerea fluxului sanguin renal din zona corticală și nivelul de creștere a secreției de renină [107].

Abe și colab. au arătat că reducerea presiunii de perfuzie pe fond de ocluzie ureterală completă produce creșterea secreției de renină fără să apară nici o modificare a fluxului sanguin [104]. Aceste rezultate sugerează posibilitatea stimulării baroreceptorilor din media arteriolelor aferente, activând mecanismul intrarenal de reglare a eliberării de renină.

Conform teoriei baroreceptoare, scăderea presiunii transmurale sau a presiunii arteriale, deci și a tensiunii pereților vasculari, produce stimularea eliberării de renină [68]. Datele publicate de Abe și colab. pun în evidență însă lipsa oricărei modificări semnificative a RSR în timpul reducerii presiunii de perfuzie între 142–105 mm Hg cu toate că se produce scăderea atât a presiunii transmurale, cât și a tensiunii peretelui arteriolar [104].

Deși rezultatele obținute în condițiile experimentale mai sus menționate nu se pot explica prin clasica teorie a barorecepției, un fapt rămâne clar și anume că fenomenul de autoreglare a fluxului sanguin zonal este prezent. În această situație se produce o vasodilatație maximă în zona externă fără a fi însoțită de nici o modificare a fluxului sanguin în zona profundă a corticalei.

Dacă însă presiunea de perfuzie este redusă și mai mult (75 mm Hg), în afara limitelor de funcționare a mecanismului de autoreglare fluxul sanguin în zona externă scade explicând astfel stimularea secreției de renină. În sprijinul acestei păreri, Abe citează și următoarea constatare: administrarea de acetilcolină abolește fenomenul de autoreglare, iar pe acest fond reducerea presiunii stimulează secreția de renină.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste constatări pun în evidenţă că redistribuţia fluxului sanguin renal din cursul reducerii presiunii de perfuzie nu este specifică pentru procesul de autoreglare. Acesta ar fi mai degrabă dependent de diferenţele intrinseci de răspuns a vaselor din anumite zone ale corticalei renale.

Am arătat că distribuţia conţinutului în renină în zona corticală a rinichiului este neomogenă, mai precis că există un gradient regresiv din zonele externe către profunzimea acestei regiuni [108]. Sunt clasice, de asemenea, şi observaţiile care evidenţiază că însăşi distribuţia fluxului sanguin este diferită în anumite zone ale rinichiului. Astfel, s-a ivit întrebarea dacă aceste două constatări nu reprezintă manifestări diferite ale aceluiaşi fenomen de realizare în bune condiţii a funcţiei renale. Pentru a răspunde la această întrebare, s-au studiat efectele creşterii presiunii venoase renale la câine asupra distribuţiei debitului sanguin şi a secreţiei de renină, utilizând pentru urmărirea distribuţiei intrarenale a debitului sanguin, spălarea cu xenon (^{133}Xe).

Creşterea presiunii în vena renală la 30 mm Hg antrenează o modificare semnificativă atât a distribuţiei intrarenale a debitului sanguin, cât şi o creştere semnificativă a debitului de secreţie reninică, fără a modifica debitul sanguin total şi nici fluxul de filtrare glomerulară. Dacă presiunea venoasă este ridicată din nou la valori de peste 30 mm Hg se observă o nouă redistribuire regională a debitului de filtrare glomerulară. Debitul de secreţie a reninei (produsul dintre diferenţa arterio–venoasă renală a ARP şi debitului plasmatic renal) creşte semnificativ atunci când presiunea venoasă renală creşte cu 20–50 mm Hg. Se observă deci că această corelaţie semnificativă între secreţia de renină şi redistribuirea fluxului sanguin renal dinspre zona externă către cea internă a cortexului renal fără însă a putea preciza dacă aceste modificări de hemodinamică intrarenale stimulează direct eliberarea reninei.

Dacă presiunea sângelui în artera renală sau presiunea de perfuzie reprezintă semnalul cel mai important sesizat la nivelul arteriolei aferente este posibil astfel să se demonstreze existenţa acestor interrelaţii între stimul şi răspuns în condiţii fiziologice. Una din aceste circumstanţe o reprezintă restricţia cronică de sodiu, care prin scăderea sodiului şi apei reduc volumul extracelular. Toate observaţiile realizate pe această temă au arătat că o balanţă sodată negativă se însoţeşte de o creştere a ratei de secreţie a reninei şi dimpotrivă o dietă hipersodată determină scăderea secreţiei de renină şi a nivelului plasmatic al acesteia [109].

Aceste observaţii probează teoria barorecepţiei întrucât orice pierdere de sodiu şi/sau apă prin reducerea volumului lichidelor extracelulare se însoţeşte de scăderea presiunii arteriale medii. Celulele juxtaglomerulare funcţionează deci ca baroreceptori cu rol important în realizarea

Scanned with OKEN Scanner

variațiilor secreției de renină, în sens invers proporțional cu gradientul presional de-a lungul peretelui arteriolei aferente.

1.1.5.2. MACULA DENSA–TRADUCTOR AL SECREȚIEI DE RENINĂ

Observațiile prezentate anterior lasă deschisă posibilitatea de incriminare și a altor factori care ar putea interveni în reglarea secreției de renină, în afara modificărilor presiunii sanguine în artera renală. Dintre aceștia ionul de sodiu care este oferit segmentului tubular al nefronului este viu discutat.

De fapt, analizând dispoziția diferitelor componente care intră în structura aparatului juxtaglomerular, numeroși cercetători au presupus că macula densa ar putea interveni în mecanismele de reglare a secreției de renină. Există numeroase date care scot în evidență faptul că rata filtrării glomerulare ar fi controlată de variații cantitative și calitative ale lichidului (urinei) care scaldă macula densa. De asemenea, o serie de studii anatomice și histochimice sugerează interrelațiile dintre macula densa și secreția de renină:

1. Studii efectuate cu microscopul optic, cât și electronic au pus în evidență legăturile intime ce se stabilesc între celulele din zona maculei densa și cele juxtaglomerulare, acestea nefiind separate decât printr-o membrană bazală incompletă. La aceste constatări s-au adăugat acelea privind existența punților citoplasmatice intercelulare, lansându-se astfel supoziția că macula densa ar fi capabilă să faciliteze contactul direct și/sau mediat al lichidului tubular cu celulele granulare juxtaglomerulare.

2. McManus a demonstrat pentru prima dată că aparatul Golgi al celulelor maculare nu are o situație obișnuită, fiind dispus de obicei spre polul bazal și foarte rar spre zona luminală [111].

3. În urma studiilor histochimice întreprinse pe numeroase modele experimentale s-a stabilit o corelație pozitivă între granularitatea celulelor juxtaglomerulare și activitatea enzimelor șuntului hexozo-monofosfat la nivelul maculei densa [81, 112, 113, 157].

4. S-a constatat, de asemenea, că granularitatea celulelor juxtaglomerulare la șoarece are aspectul întâlnit la adult încă din a treia săptămână de viață intrauterină, timp în care se produce și maturarea ansei Henle [114]. Aceste observații au permis elaborarea ipotezei unei posibile relații funcționale între secreția de renină și funcționarea ansei Henle.

5. Barajas și Latta au evidențiat la șobolani suprarenalectomizați apariția de corpi citoplasmatici denși la nivelul maculei densa concomitent cu creșterea granularității juxtaglomerulare [110].

Scanned with OKEN Scanner

6. Reeves şi colab. [115] au descris procesul de creştere a înălţimii celulelor maculare la pacienţi cu ciroză la care se asociază modificarea lor hidropică. Reeves şi Sommers au evidenţiat creşterea taliei acestor celule corelată reciproc cu excreţia urinară a sodiului sau după restricţie totală de apă timp de 24 de ore [116]. Brown şi colab. au descris, de asemenea, o hipertrofie a celulelor maculare după constricţia arterelor renale la iepure [82].

Toate aceste observaţii morfologice şi histochimice susţin rolul maculei densa în controlul secreţiei de renină. Factorii des incriminaţi în stimularea acestei formaţiuni au fost fie osmolaritatea lichidului tubular, fie concentraţia sodiului. Supoziţiile respective au fost ulterior verificate prin studii de micropuncţie tubulară care au scos în evidenţă un fapt nou, şi anume că înainte de tubul distal, osmolaritatea şi concentraţia sodiului sunt mai scăzute decât sodiul plasmatic [117, 118, 119, 121]. Această situaţie este rezultatul proprietăţilor funcţionale particulare ale diferitelor segmente nefronale, ştiut fiind că ramul ascendent al ansei Henle permite reabsorbţia activă a acestui ion, în timp ce pentru apă este impermeabil. Trebuie însă de menţionat că există unele date obţinute tot prin studii de micropuncţie care nu validează teoria osmolarităţii sau a concentraţiei sodiului. În acelaşi timp, funcţionarea în contracurent a structurii medulare renale nu este încă suficient de bine clarificată pentru a putea afirma cu certitudine în ce mod variaţiile de compoziţie a fluidului tubular pot induce prin intermediul maculei densa modificarea secreţiei de renină. Aceste aspecte ale problemei sunt mai bine ilustrate prin rezultatele realizate în cursul diurezei osmotice. Administrarea de soluţie hipertonică de manitol determină o creştere a osmolarităţii în porţiunea iniţială a tubului distal [118, 122], în timp ce soluţia hipertonică de NaCl reduce osmolaritatea la acest nivel, ca urmare a antidiurezei realizate [118]. Deoarece se cunoaşte că atât soluţia hipertonă de manitol, cât şi aceea de NaCl inhibă eliberarea reninei [96], se înclină către părerea că stimulul adecvat pentru macula densa este reprezentat de osmolaritatea lichidului ce scaldă această structură.

Rezultatele privind implicaţiile concentraţiei sodiului în segmentul iniţial al tubului distal sunt de asemenea neclare. Intuitiv s-ar putea presupune că perfuzia cu soluţie hipertonă de NaCl ar determina creşterea concentraţiei sodiului în porţiunea iniţială a tubului distal, ceea ce de fapt nu se realizează. Se observă doar o creştere a încărcării de sodiu, în timp ce concentraţia sa rămâne nemodificată sau din contră scade [117]. Rezultate similare s-au obţinut şi prin utilizarea soluţiei de glucoză şi manitol [118].

Întrucât toate aceste diuretice erau cunoscute ca inhibitori ai secreţiei de renină [96], ele au servit ca material pentru Thurau şi Schnermann la

Scanned with OKEN Scanner

elaborarea ipotezei că eliberarea reninei variază direct proporțional cu concentrația sodiului la nivelul maculei densa [124, 125]. Pentru a aduce date în plus care să confirme această supoziție, Thurau a imaginat un model experimental care utiliza perfuzia porțiunii inițiale a tubului distal cu soluție de compoziție diferită prin intermediul unei micropipete. Astfel, ei au observat că introducerea de clorură sau bromură de sodiu izotonică la acest nivel induce colaps rapid în sectorul proximal al aceluiaşi nefron. Fenomenul respectiv a fost interpretat ca fiind rezultatul eliberării locale de renină cu formare de angiotensină şi oprirea filtrării glomerulare. Din contră, utilizarea unei soluții equiosmolare de manitol nu a indus colaps şi nici chiar clorura de sodiu dacă rinichii erau lipsiți de renină prin încărcare sodată sau nefrectomie unilaterală. Pentru ipoteza lui Thurau exista însă şi o altă posibilitate de explicare a colapsului proximal observat în cursul experiențelor anterioare. Astfel, Courtney şi colab. au perfuzat ansa Henle cu soluție izotonică de NaCl şi au observat că în porțiunea inițială a tubului distal concentrația sodiului variază direct proporțional cu rata de perfuzie [126]. Datele respective par să vină în contradicție cu acelea obținute prin micropuncție. Diferențele par a fi rezultatul variației concentrației şi ratei de perfuzie a acestor ioni. De fapt, teoriile privind rolul osmolarității lichidului tubular sau concentrației de sodiu la acest nivel rămân doar simple speculații.

O serie de alte date experimentale demonstrează că secreția reninei poate fi modificată şi prin variații cantitative ale lichidului ce scaldă macula densa, ca urmare a modificării balanței lichidiene a organismului şi perturbării funcției cardiovasculare.

În acest sens se înscriu experiențele care au folosit metoda micropuncției la şobolani şi câine şi care au precizat că:

– scăderea fluxului sanguin renal, ca urmare a constricției arterei renale, a arterei aorte sau reducerea volumului plasmatic, determină o diminuare a ratei de perfuzie a tubului proximal [127, 128, 129];

– expansiunea volumului extracelular ca urmare a perfuziei cu soluție izotonică sau hipertonică cu clorură de sodiu, determină, din contră, în mod obişnuit creşterea RFG (rata de filtrare glomerulară) şi astfel s-ar putea reduce reabsorbția fracției proximale de sodiu [95, 127, 130, 131];

– modificarea balanței sodate sau a funcției aparatului cardiovascular în măsură să realizeze creşterea RFG şi astfel să scadă reabsorbția proximală a sodiului, va spori fluxul ionului respectiv la nivelul capătului inițial al ansei Henle şi astfel va diminua încărcarea sodată a ansei Henle.

– modificările respective sunt însă parțial stopate, întrucât segmentul ascendent al ansei este capabil să-şi ajusteze rata de transport în funcție de în-

Scanned with OKEN Scanner

cărcarea de sodiu ce i se prezintă [117, 122, 131, 132]. Totuşi, compensarea este incompletă şi cantitatea de sodiu care vine în contact cu ma-cula densa este modificată; astfel, devine evident că reducerea RFG la şobolan prin clamparea arterială induce o scădere totală a sodiului furnizat porţiunii iniţiale a tubului distal;

– prin anumite mecanisme, încărcarea de sodiu a maculei densa poate fi detectată, realizându-se astfel o relaţie de reciprocitate între încărcarea sodată şi eliberarea de renină [92].

– Thurau şi Schnermann au ajuns însă la concluzii diametral opuse [125]. Ei consideră că încărcarea cu sodiu scade secreţia de renină. În acest context autorii respectivi au explicat fenomenul de autoreglare a fluxului sanguin renal şi a fluxului de filtrare glomerulară de către angiotensina formată în exces în urma creşterii RFG. Aceste rezultate vin în contradicţie cu datele obţinute în experiment acut pe animale cu constricţia arterei aorte sau arterei renale şi care prezentau o reducere a presiunii în artera renală, însoţită de creşterea secreţiei de renină. Trebuie subliniat că validitatea teoriei lui Thurau cu privire la fenomenul de autoreglare având ca traductor macula densa, iar ca stimul ionul de sodiu este foarte importantă pentru înţelegerea acţiunii stimulilor specifici la acest nivel. Este posibil ca celulele maculare să poată detecta variaţii ale încărcării de sodiu prin modificarea conţinutului ionic intracelular. Aşa se pot interpreta datele mai sus citate în care transportul sodiului în tubul proximal şi ramul ascendent al ansei Henle este direct proporţional cu încărcarea sodată ce li se prezintă. Dacă macula densa funcţionează de aceeaşi manieră, reabsorbţia de sodiu şi concentraţia intracelulară a ionului respectiv pot să se modifice direct proporţional cu încărcarea totală cu acest ion şi mai puţin probabil în funcţie de concentraţia sa din lichidul intratubular. Reeves şi Sommers [116] au sugerat existenţa posibilă a unui mecanism prin care concentraţia sodiului intracelular ar putea controla secreţia de renină, întrucât cercetările lor biochimice şi histochimice au evidenţiat că ionul de sodiu inhibă, *in vitro*, glucozo–6–fosfatdehidrogenaza.

Problema privind implicaţiile ionului de sodiu în secreţia de renină, via macula densa, este plină de aspecte contradictorii, întrucât Stamey propune o antiteză a teoriei enunţate mai sus [133]. Acest cercetător a demonstrat că eliberarea de renină este mai degrabă în relaţie de directă proporţionalitate cu rata de reabsorbţie a sodiului prin macula densa. În acest sens sunt citate observaţiile făcute pe rinichi uman la care filtrarea glomerulară este absentă. Lipsa granulelor juxtaglomerulare din aceşti rinichi este interpretată ca fenomen de inhibiţie a secreţiei de renină ca urmare a stopării

Scanned with OKEN Scanner

complete a procesului de filtrare glomerulară. Totuşi, Luciano şi Vander (citat 93) au observat o rată crescută de elaborare a reninei la câini ai căror rinichi erau perfuzaţi sub o presiune de 25–30 mm Hg şi la care filtrarea glomerulară era complet oprită.

Cercetările efectuate pe subiecţi normali au evidenţiat că regimul de restricţie sodată produce creşterea activităţii reninei plasmatice faţă de valoarea sa de bază. Administrarea la oameni a unui regim alimentar lipsit de sodiu timp de 24 de ore sau o perioadă mai îndelungată, uneori asociată cu medicamente natriuretice, este însoţită de o creştere marcată a nivelului reninei plasmatice [134, 135, 136, 137, 138, 139]. Efecte asemănătoare au fost descrise şi la câine (140 (citat 92)), iar la şobolani, depleţia sodată cronică sau privaţiunea de apă produce o creştere a granularităţii juxtaglomerulare şi a conţinutului renal în renină [141, 142]. Din contră, administrarea de sodiu în exces determină scăderea eliberării de renină atât la om [136, 137], cât şi la şobolan [141, 142]. Ambele tipuri de experienţe sprijină atât teoria baroreceptoare, cât şi teoria maculei în procesul de dirijare a elaborării de renină. În condiţiile restricţiei sodate, presiunea arterială, fluxul filtrării glomerulare cât şi nivelul sodiului plasmatic au tendinţa să scadă şi din contra, ele cresc la o valoare superioară în timpul administrării de clorură de sodiu în exces. De fapt, în aceste condiţii se produc modificări fie de întindere a celulelor juxtaglomerulare fie de încărcare sodată a maculei densa dar care pot fi şi rezultat a creşterii tonusului simpatic. De altfel, Brubacher şi Vander au observat că în condiţiile rinichiului denervat chirurgical răspunsul reninic după privaţiunea de sare este mult întârziat şi în acelaşi timp semnificativ redus, pentru ca după patru zile de la denervare creşterea reninei în aceleaşi condiţii să îmbrace aspectul observat înainte de intervenţie. Administrarea de blocanţi ganglionari sau interceptarea receptorilor α- sau β- adrenergici nu modifică secreţia de renină în experienţele în care s-a administrat un regim sărac de sodiu.

Vander şi Miller au prevenit creşterea secreţiei de renină din timpul constricţiei aortice prin administrare de diuretice, ştiut fiind că acestea determină o creştere a încărcării cu sodiu a maculei densa [96]. Davis presupune că la nivelul maculei s-ar forma o substanţă cu rol în eliberarea reninei din granulele celulelor epitelioide [143]. De altfel, nu se cunoaşte nimic despre acest "renin–releasing factor" care s-ar putea să fie o enzimă proteolitică, cu rol în degradarea membranei ce înconjoară granulele din celulele epitelioide.

Brown şi colab. au pus în evidenţă existenţa unei corelaţii semnificative între concentraţia plasmatică a sodiului şi ARP [136, 144]. Ei pre-

Scanned with OKEN Scanner

cizează că hiponatremia este factor stimulator pentru secreția de renină, în timp ce hipernatremia inhibă eliberarea acesteia. Administrarea de mineralocorticoizi în condiții normale sau asociată la un regim hipersodat inhibă secreția de renină. Concluzia care rezultă din aceste experiențe este că elementul morfologic responsabil cu detecția variațiilor sodiului este macula densa.

Cooke şi colab. au găsit că acidul etacrinic, inhibitor al reabsorbției ionului de sodiu la nivelul ansei Henle, creşte activitatea reninică din sângele venos după 5 minute de la administrare [145]. Răspunsul reninic apare şi în absența scăderii volemiei, prin introducerea urinei ureterale în vena femurală a animalului respectiv. Din contră, clorotiazida ce acționează mai ales la nivelul tubului distal şi mai puțin pe ansa Henle, nu izbuteşte să crească eliberarea reninei în timpul injectării intravenoase a urinei. Aceste date îl determină pe Cooke să presupună că nivelul crescut al sodiului, în contact cu macula densa determină eliberarea de renină. La aceleaşi concluzii au ajuns şi Meyer şi colab. prin administrare de furosemid la iepure [148]. Nash presupune că "natriostatul tubular" percepe semnalul ce conduce la eliberarea reninei [149], iar Guyton şi colab. apreciază că celulele maculei densa ar funcționa ca nişte osmoreceptori capabili să sesizeze variațiile osmolarității lichidului tubular şi implicit a ionilor de sodiu [150].

Clorotiazida şi diureticele mercuriale suprimă creşterea secreției reninei indusă de reducerea presiunii în artera renală. Din contră, administrarea acestor substanțe [94, 109, 136] sau a altora cu acțiune natriuretică similară [151, 152] la câinii normotensivi [94] sau la oameni [136] reduc secreția de renină pe parcursul a 1–2 ore cât timp se produce de altfel şi natriureza. Aceasta reprezintă desigur perioada în care încărcarea cu sodiu a celulelor maculare a fost mai mare decât în mod obişnuit. Fenomenul respectiv nu mai apare dacă depleția sodată, secundară diurezei, este preîntâmpinată prin compensarea pierderii lichidiene ca urmare a instituirii unei perfuzii concomitente cantitativ echivalentă. De aici, Vander şi Luciano [94], Meyer şi colab. [152, 153] trag concluzia că factorul care ar putea determina modificarea secreției de renină ar fi depleția lichidiană şi efectul drogurilor sau al diurezei instituite.

Deci, drogurile natriuretice au efect paradoxal, dublu. Diureza însăşi poate să inhibe eliberarea de renină produsă în mod obişnuit de reducerea presiunii arteriale renale, iar depleția acută de sodiu indusă de creşterea diurezei stimulează eliberarea reninei cu toate că această eliminare crescută de urină este prezentă pe tot parcursul observației.

Scanned with OKEN Scanner

Poate cea mai importantă implicație a acestor efecte este aceea că mecanismele care controlează eliberarea reninei în timpul reducerii presiunii sanguine sau a depleției sodate ar trebui, în cele din urmă, să fie acceptate ca diferite. În acest context s-ar putea admite că atât presiunea în artera renală, cât și diureza ar fi capabile să influențeze secreția de renină, via macula densa, prin modificări sodate, iar depleția sodată ar determina pe cale reflexă stimularea eliberării de renină prin mecanisme care ar putea să opereze, în parte independent de macula densa. Vander și Luciano au demonstrat că sistemul nervos simpatic ar putea avea un rol în acest mecanism fără însă a fi esențial, întrucât depleția sodată ca urmare a administrării diureticelor mercuriale induce o creștere a secreției de renină chiar în condițiile denervării renale și administrării de blocanți ganglionari sau a alfa și beta–receptorilor adrenergici [94].

Una din cele mai captivante interpretări a mecanismului prin care macula densa ar interveni în controlul secreției de renină de către celulele mioepiteliale juxtaglomerulare ar consta în faptul că această structură tubulară în prezența unei cantități mai mari de soluție de clorură de sodiu și-ar intensifica fluxul reabsorbtiv al acestei substanțe și ar putea astfel să declanșeze un semnal care ar acționa paracrin asupra celulelor juxtaglomerulare secretoare de renină. Acest semnal paracrin ar putea fi Ang II produsă local, prostaglandinele, calciul, adenozina etc.

Interpretarea respectivă este susținută și de părerea că macula densa se crede că ar media feedback-ul tubuloglomerular în sensul că vasoconstricția arteriolei aferente ar fi produsă de creșterea cantității de clorură de sodiu în lichidul care scaldă celulele tubulare din structura respectivă și astfel s-ar regla filtrarea glomerulară și fluxul sanguin renal.

Dacă rata secreției de renină este cel puțin în parte funcție de ionul de sodiu și/sau clor oferit de lichidul tubular maculei densa cu siguranță că se dezvoltă un mecanism de feedback negativ în cadrul elementelor participante. Menard și colab. au arătat că administrarea de inhibitori ai reninei la oameni produce scăderea formării de angiotensină II, care la rândul ei ar reprezenta stimulul major pentru secreția reactivă de renină [154].

Adenozina intervine în fiziologia arteriolei aferente, fapt probat de existența receptorilor de tip A_1 la acest nivel. Astfel, activarea acestor receptori de la nivelul celulelor juxtaglomerulare prin administrare de agoniști ar inhiba secreția de renină [155], iar a celor prezenți în membrana miocitelor netede din peretele arteriolei aferente ar media vasoconstricția consecutivă [156]. Aceste date, corelate cu observațiile conform cărora creșterea încărcării cu sodiu a maculei densa ar produce eliberarea adenozinei, oferă

Scanned with OKEN Scanner

acesteia responsabilitatea pentru inhibarea secreției de renină și scăderii filtrării glomerulare ca urmare a vasoconstricției arteriolei aferente. Deși adenozina este cunoscută ca un agent vasodilatator în cele mai multe teritorii vasculare datorită prezenței ambelor tipuri de receptori (A_1 și A_2), la nivelul celulelor juxtaglomerulare aceasta ar putea media fie inhibiția, fie stimularea secreției de renină.

Semnificative sunt experiențele efectuate prin blocaj ureteral și constricție a venei renale. Astfel, blocajul ureteral acut la câini anesteziați determină o creștere a secreției de renină [96], iar stricturarea parțială a venei renale nu induce nici o modificare a acesteia [62]. Ori, este cunoscut faptul că ambele procedee produc modificări foarte asemănătoare ale presiunii intrarenale [76, 77]. Prin aceste procedee se induce atât o creștere a presiunii intratubulare, cât și interstițiale, în timp ce presiunea transmurală scade [99]. Aceste rezultate au fost interpretate în felul următor: blocajul ureteral prin stază retrogradă în tubi uriniferi determină o scădere a încărcării cu sodiu a porțiunii incipiente a tubului distal, în timp ce diureticele osmotice produc un efect invers, de încărcare cu sodiu a maculei densa. Lipsa oricărei modificări în cursul constricției venei renale este interpretată ca decurgând din inhibiția reabsorbției proximale a sodiului, diminuării RFG și astfel încărcarea cu sodiu a maculei densa nu este semnificativ modificată.

Deci problema rolului sodiului, ca factor reglator al secreției de renină via–tubul urinifer, pare mult mai complicată. Perfuzia cu soluție hipertonă de NaCl nu determină variații ale concentrației Na^+ la nivelul maculei densa, ci doar o creștere a cantității totale a ionului respectiv [117] așa încât macula densa se comportă ca un detector al variațiilor de încărcare cu sodiu. În aceste circumstanțe, rata transportului de sodiu prin aceste celule este în raport mai degrabă cu încărcarea tubulară decât cu concentrația sa din lichidul tubular. Cu alte cuvinte, concentrația Na^+ din celulele maculei densa este funcție de încărcarea tubulară cu acest ion.

Deoarece s-a observat că ionul de sodiu are *in vitro* un efect inhibitor asupra glucozo–6–fosfatdehidrogenazei [116] enzima respectivă găsindu-se în relație de directă proporționalitate cu renina din AJG [157], s-a tras concluzia că sinteza de renină implică și participarea glucozo–6– fosfatdehidrogenazei. Este interesant de menționat și ipoteza lui Eigler după care unul din stimulii secreției de renină ar fi reprezentat la nivelul AJG, de gradientul de concentrație al sodiului între plasmă și urina tubului distal [158].

În condițiile perfuzării rinichiului izolat am avut posibilitatea să urmărim influența directă pe care o exercită variațiile de concentrație a ionului de sodiu din sângele ce irigă rinichiul, asupra eliberării de renină [72]. Pe

Scanned with OKEN Scanner

acest fond am intervenit cu diverşi factori ce interferează cu transportul sodiului prin epiteliul respectiv, dar şi cu alţi agenţi care sunt indiferenţi în pasajul acestui ion prin peretele tubular. Într-un prim set de experienţe am urmărit efectul realizat de hiperosmoză prin introducerea NaCl în cantitate suficientă să crească concentraţia sodiului plasmatic cu aproximativ 20 mEq/l a sângelui de perfuzie a rinichiului de câine izolat.

În toate experienţele rata de secreţie a reninei de către rinichi a crescut cu peste 50 % faţă de valoarea iniţială, concomitent cu ridicarea nivelului plasmatic şi urinar al sodiului. Creşterile ARP din sângele venos al rinichiului izolat au fost mai mari în primele minute după introducerea soluţiei de NaCl (tabelul 1.1.).

Tabelul 1.1. Influenţa NaCl asupra secreţiei de renină de către rinichiul de câine izolat şi perfuzat cu sânge homolog

Nr. exp.	Timpul	Fluxul reninic ng/min.	Na^+ (mEq/l)	
			Plasmă	Urină
1.	0	46,40	145	143
	30 min.	81,00	172	161
2.	0	49,85	149	49
	4 min.	100,65	160	153
3.	0	130,80	142	138
	4 min.	328,40	168	157
	30 min.	176,00	180	172
4.	0	51,60	149	144
	4 min.	188,60	185	164
	30 min.	69,20	185	195

Pentru a stabili eventualele interrelaţii între aceste două variabile ale experimentului nostru, secreţia de renină şi echilibrul sodat, mult discutate în literatură, am utilizat ca factor de disociere strofantina ale cărei efecte blocante (inhibarea transportului activ de Na^+ asupra reabsorbţiei tubulare de sodiu) sunt binecunoscute (tabelul nr. 1.2).

În majoritatea experienţelor în care s-a practicat inhibarea ATP-azei Na^+-K^+, s-a obţinut creşterea eliberării de renină, însoţită, de asemenea, şi de creşterea presiunii în sistemul de perfuzie cu 20–40 mm Hg. Creşterea nivelului ARP din sângele efluent renal după administrarea ouabainei este mai marcată atunci când nivelul sodiului urinar atinge valori mai ridicate. În aceste condiţii s-a observat existenţa unei corelaţii mai degrabă în funcţie de variaţiile urinare decât plasmatice ale ionului respectiv.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1.2. Efectele strofantinei asupra eliberării reninei de către rinichiul izolat şi perfuzat

Nr. exp.	ARP µg/l		Na mEq/l				K mEq/l				Observaţii
	Iniţial	Strofantină	Plasmatic		Urinar		Plasmatic		Urinar		
			I	S	I	S	I	S	I	S	
1.	5,86	9,76	147	145	184	196	6,70	12,5	28,5	20,0	Creşterea presiunii sistolice cu 25 mm Hg
2.	4,45	4,09	127	127	121	121	4,8	8,85	15,0	15,0	-
3.	6,90	6,79	134	127	91	111	4,8	9,1	40,0	24,0	-
4.	15,12	16,73	127	124	-	-	6,0	11,5	-	-	-
5.	22,77	29,22	156	153	100	123	2,45	6,0	32,5	20,0	Creşterea presiunii sistolice cu 20 mm Hg
6.	7,71	9,89	138	134	127	147	4,4	6,7	20,0	12,0	Creşterea presiunii sistolice cu 20 mm Hg
7.	2,96	2,77	134	134	111	111	4,4	8,0	44,0	28,5	-
8.	18,00	46,63	134	131	90	136	4,0	5,2	40,0	12,0	Creşterea presiunii sistolice cu 40 mm Hg
9.	6,21	14,88	136	130	152	170	4,6	6,8	42,0	26,0	Creşterea presiunii sistolice cu 40 mm Hg
10.	18,05	26,52	140	138	125	141	3,83	7,2	30,0	14	Creşterea presiunii sistolice cu 25 mm Hg

Scanned with OKEN Scanner

Deşi apar variaţii şi ale concentraţiei potasiului atât în plasmă, cât şi în urină, nu am putut stabili o corelaţie între modificarea acestui ion şi secreţia de renină. Scăderea secreţiei de renină după excitarea nervilor renali pe fond de strofantină în toate experienţele întreprinse, atrage atenţia asupra naturii membranare a fenomenului de secreţie şi lansarea reninei în circulaţie, indiferent de factorul care l-a generat (tabelul 1.3).

Tabelul 1.3. Influenţa ouabainei şi a stimulării electrice a nervilor renali asupra secreţiei de renină în rinichiul izolat şi perfuzat

Nr. exp.	ARP (µg/l)				
	Martor	Stimulare electrică	Martor	Ouabainã	Stimulare electrică
1.	3,51	4,30	6,90	6,79	6,0
2.	17,56	16,81	22,77	29,22	28,55
3.	9,25	9,03	7,71	9,89	7,20
4.	10,15	12,12	2,96	2,77	2,13
5.	14,28	18,43	18,00	46,63	22,66
6.	8,81	7,84	18,05	26,52	16,27

Pentru a face un pas înainte în raţionametul nostru, am realizat un număr de experienţe în care am introdus soluţie de $CaCl_2$ (10 mM) în sângele de perfuzie a rinichiului izolat. Şi introducerea $CaCl_2$ a fost urmată, în majoritatea experienţelor, de creşterea eliberării de renină, iar excitarea electrică a nervilor renali a produs o creştere şi mai marcată a ARP din sângele efluent (tabelul 1.4.).

Tabelul 1.4. Efectele $CaCl_2$ şi ale strofantinei asupra secreţiei de renină în rinichiul de câine izolat

Nr. exp.	ARP (µg/l)				
	Martor	$CaCl_2$	Excitarea nervilor renali	Strofantină	Excitarea nervilor renali
1.	12,28	11,5	20,49	24,2	17,84
2.	13,83	18,26	19,25	19,99	19,69
3.	15,17	15,42	15,64	-	-
4.	17,5	18,96	20,12	17,25	17,69
5.	11,6	28,49	30,55	20,86	24,84

Scanned with OKEN Scanner

Deşi este bine stabilit că ionul de sodiu intervine în secreţia reninei la nivelul aparatului juxtaglomerular, nu este clarificat încă faptul dacă între eliberarea reninei şi concentraţia sodiului din tubul renal există o relaţie directă sau invers proporţională. Acest lucru este dificil de precizat prin experienţe *in vivo*, deoarece variaţia unuia dintre factori se însoţeşte obligatoriu de modificarea altor verigi ce ar putea interveni în procesul de eliberare al reninei.

Folosind metoda lui Hammersen şi colab. pentru izolarea glomerulilor renali de tubii uriniferi, am încercat să disociem rolul celulelor juxtaglomerulare de cel al maculei densa în procesul de secreţie al reninei în variantele noastre experimentale [159].

După obţinerea broaiatului de rinichi şi separarea glomerulilor de tubii uriniferi, aceştia au fost resuspendaţi într-o cantitate de ser fiziologic. Ulterior s-a incubat o anumită cantitate de suspensie cu ser fiziologic, alta cu ouabainã (0,001 g %) şi o a treia cu $CaCl_2$ (0,001 g %). Într-o a doua etapă, supernatantul a fost tratat conform tehnicii Boucher pentru evaluarea reninei eliberate.

Incubând glomerulii astfel obţinuţi, în condiţiile arătate mai sus, nu s-au obţinut diferenţe semnificative de eliberare a reninei de către celulele epitelioide din pereţii arteriolei aferente.

Eventualele implicaţii ale modificărilor concentraţiei plasmatice a ionului de potasiu în controlul secreţiei de renină au fost semnalate pentru prima dată de Veyrat şi colab. [160, 161]. S-a observat că nivelul crescut al potasiului plasmatic este asociat cu scăderea secreţiei de renină [160, 161, 162, 163], iar perfuzia cu soluţie hiperkalemică în artera renală reduce rapid secreţia de renină [164]. Deci, ionul de potasiu ar putea avea o acţiune directă asupra eliberării de renină fie prin stabilizarea membranei granulelor ce stochează renina, fie prin alterarea producţiei de "renin–releasing factor" [65]. O altă posibilitate de acţiune a acestui ion s-ar putea exercita la nivelul tubului renal, înainte de macula densa, inhibând reabsorbţia sodiului şi crescând astfel încărcarea cu Na^+ a acestei structuri ceea ce ar determina scăderea secreţiei de renină [165]. Aceste ultime consideraţii sunt împărtăşite şi de Shade şi colab. care au obţinut modificări ale secreţiei de renină la rinichiul cu filtrarea blocată după perfuzia în artera renală a unor soluţii hipertone de potasiu [166]. Alţi cercetători, studiind relaţia dintre aceşti factori au găsit modificări ale reninei plasmatice independente de variaţii ale secreţiei de aldosteron [167] sau balanţei sodate [162].

Toate aceste observaţii pledează pentru o acţiune intrarenală a potasiului, mediată fie de modificarea concentraţiei sau încărcării cu sodiu la

Scanned with OKEN Scanner

nivelul maculei densa, fie printr-o acţiune directă asupra celulelor JG şi de ce nu, asupra celulelor musculare netede din peretele arteriolar.

În interpretarea rolului maculei densa în controlul secreţiei de renină se înclină să se creadă deci, că aceasta mai degrabă ar sesiza produsul dintre fluxul şi concentraţia ionului de sodiu decât concentraţia propriu–zisă a acesteia în urină. Lorenz şi colab., lucrând pe aparat juxtaglomerular izolat de la iepure au observat însă variaţii ale secreţiei de renină mai degrabă ca urmare a variaţiilor de concentraţie a NaCl oferită acestei structuri [168]. Aceşti autori atrag atenţia asupra participării şi a ionilor de clor în procesele de control al secreţiei de renină, via macula densa, confirmând datele prezentate anterior de Kotchen şi colab. [169]. În fapt, Lorenz şi colab. [168] au arătat că macula densa sesizează atât variaţiile concentraţiei de Na^+, cât şi a Cl^-, dar că sensibilitatea pentru Cl^- este superioară faţă de sodiu [170]. De aceea, Briggs şi colab. [171] au precizat că ar fi corect să se interpreteze macula densa ca senzor al transportului transepitelial de clorură de sodiu.

1.1.5.3. ROLUL SISTEMULUI NERVOS SIMPATIC

Existenţa unui mecanism intrarenal capabil să regleze sinteza şi eliberarea de renină este indiscutabilă. În acest context acţionează cele două teorii, a barorecepţiei şi teoria maculei densa. Ulterior, s-au acumulat o serie de date care au pus în evidenţă şi posibilitatea de control asupra secreţiei de renină pe cale neuroreflexă.

Taquini şi colab. au arătat că denervarea renală unilaterală la şobolan scade conţinutul său în renină în comparaţie cu rinichiul opus, rămas intact [192]. Aceste observaţii au fost confirmate de Tobian şi colab. [596] care au găsit o scădere cu aproximativ 40 % a granulaţiilor juxtaglomerulare în rinichiul denervat. Vander a demonstrat că stimularea nervilor renali produce o creştere a secreţiei de renină, fapt reprodus şi prin injectarea intravenoasă de noradrenalină sau adrenalină, în condiţii de menţinere constantă a presiunii arteriale prin constricţia arterei aorte [103]. Bunag, Page şi Mc.Cubbin au constatat că ocluzia arterelor carotide, prin intermediul simpaticului, induce, de asemenea, creşterea nivelului reninei circulante, în timp ce ganglioplegicele sau anestezia locală a nervilor renali previne creşterea ARP secundară hemoragiilor [69]. Gordon şi colab. au atras atenţia asupra faptului că efortul fizic şi efectele sale asupra creşterii ARP sunt mediate de nervii simpatici renali [193]. O dovadă în plus care să ateste că nervii renali joacă un rol important în eliberarea reninei, ca urmare a modificărilor balanţei sodate, a fost adusă de Mogil şi colab. care au demonstrat că ARP nu reuşeşte să crească după depleţia sodată la câinii cu rinichii denervaţi [194].

Scanned with OKEN Scanner

Au apărut ulterior comunicări care demonstrau intervenţia sistemului simpatic în eliberarea reninei ca răspuns la hemoragie [69], la modificări posturale [93, 195] etc.

În acest context, hipoglicemia şi stimularea „ariei presoare" de la nivelul bulbului rahidian [196], modalităţi de stimulare simpatică [197] sunt urmate de creşteri ale activităţii reninei plasmatice, răspunsurile respective fiind deci mediate de nervii renali. De asemenea, Wathen şi colab. [198] şi Bunag şi colab. [69] au observat o creştere a eliberării de renină în urma injectării de catecolamine direct în artera renală. Totuşi, în condiţiile injectării intravenoase de catecolamine în doze presoare, secreţia de renină nu mai creşte.

Scornic şi Paladini au demonstrat că injectarea intravenoasă de noradrenalină determină o creştere uşoară dar semnificativă a angiotensinei plasmatice [85]. Dacă se asociază însă noradrenalina cu reducerea presiunii de perfuzie renală se obţine o creştere brutală a angiotensinei, în condiţiile în care angiotensinogenul plasmatic rămâne nemodificat.

În sfârşit, Bunag şi colab. au obţinut eliberare crescută de renină şi după injectarea de tiramină sau dimetilfenilpiperazină direct în artera renală [69].

Wathen şi colab. explică creşterea eliberării de renină ca urmare a perfuziei intravenoase sau intraarteriale de adrenalină şi noradrenalină, prin modificările induse în hemodinamica renală [198]. Ulterior, Michelakis şi colab. au observat că producţia netă de renină este crescută ca urmare a adăugării de adrenalină, noradrenalină şi AMP ciclic în suspensia de celule renale la câine [196].

Rolul receptorilor adrenergici a fost studiat de Winer şi colab. care au găsit că ARP la subiecţi normali creşte în urma administrării de diazoxid, acid etacrinic şi teofilină [200]. Efectul acestor substanţe se realizează probabil prin mecanisme diferite, iar influenţa lor asupra excreţiei de sodiu este foarte variabilă. La fiecare dintre aceşti stimuli, activitatea reninei plasmatice a fost scăzută când s-a administrat fentolamină sau propranolol, cu toate că blocanţii adrenergici au o influenţă redusă asupra excreţiei de sodiu. De asemenea, Birbari constată că dibenamina suprimă efectul de creştere a ARP care apare secundar unei hemoragii [201].

Toate aceste experienţe canalizează către o singură concluzie ce vrea să demonstreze că sistemul nervos simpatic poate să intervină în mecanismul de sinteză şi eliberare a reninei.

Se disting astfel trei posibilităţi prin care nervii renali, respectiv catecolaminele ar interveni în controlul eliberării reninei:

Scanned with OKEN Scanner

1. controlul direct asupra celulelor juxtaglomerulare sau la nivelul maculei densa, întrucât aparatul juxtaglomerular primeşte o bogată reţea de fibre nervoase amielinice care par a fi de natură simpatică [202, 203]. Aceste ramificaţii nervoase par să intervină nu numai prin acţiune directă asupra eliberării de renină, ci şi prin reglarea tonusului arteriolar bazal şi prin efectul lor permisiv, facilitând intervenţia altor stimuli;

2. amplificarea semnalului pentru presupuşii "stretch"–receptori, inclusiv constricţia arteriolei aferente;

3. amplificarea semnalului pentru eventualii receptori maculari prin reducerea filtrării glomerulare secundar vasoconstricţiei arteriolare aferente. La acestea se mai poate adăuga efectul nervilor renali de influenţare directă a reabsorbţiei sodiului [204].

Pentru a ne putea contura o idee cât mai aproape de realitatea participării nervilor renali în mecanismul de elaborare a reninei, credem că o prezentare analitică, mai ales a ultimelor cercetări în domeniu, este necesară. Cu atât mai necesară ni se pare această trecere în revistă întrucât unii cercetători consideră mecanismul nervos ca indispensabil în adaptarea secreţiei de renină, propunând aşa-numita teorie a influenţării reflexe.

1.1.5.3.1. Stimularea selectivă a nervilor renali

Din 1964, când Skinner şi colab. au sugerat că nervii renali pot conduce influxuri capabile să influenţeze eliberarea reninei, numeroase cercetări au fost iniţiate în vederea stabilirii locului acestor formaţiuni în procesul renin–secretor. Aşa cum am arătat mai sus, studiile au fost canalizate pe două făgaşe: pe de o parte s-a urmărit acest proces după denervarea renală, iar pe de altă parte după stimulare directă a filetelor nervoase din pedicului renal.

Witty şi colab. [205] şi Shade şi colab. [166], utilizând rinichi cu filtrarea blocată sau trataţi cu papaverină, au ajuns la concluzia că nervii renali pot media eliberarea reninei fără să inducă modificări ale presiunii sanguine şi nici ale concentraţiei sodiului macular.

Pentru a aduce informaţii în legătură cu integrarea secreţiei de renină în controlul funcţiei renale în ansamblu, La Grange şi colab. au stimulat nervii renali de aşa manieră încât să nu producă modificări ale presiunii sângelui în artera renală. Experienţele acestui grup de cercetători au fost efectuate pe rinichi de câine *in situ*. Aplicând stimuli electrici cu o durată de 0,5 msec., intensitate de 10–15 V şi frecvenţă de la 0,33–1 sec., La Grange şi colab. au observat o creştere a activităţii reninice atât în sânge arterial, dar mai ales în cel

Scanned with OKEN Scanner

recoltat din vena renală, fără modificarea presiunii arteriale în acest teritoriu, a fluxului plasmatic renal sau a ratei de filtrare glomerulară.

În urma rezultatelor respective s-a tras concluzia că în aceste condiții de stimulare cu joasă frecvență, eliberarea reninei mediată pe cale nervoasă este rezultatul unui fenomen diferit şi nu consecință a modificării rezistenței vaselor renale. Deci, nervii renali ar putea avea o acțiune directă asupra celulelor eliberatoare de renină fără să inducă în acelaşi timp şi modificări hemodinamice.

Sunt interesante şi rezultatele obținute prin stimularea nervilor renali în condiții în care presiunea sângelui în artera renală prezintă valori variate.

S-a demonstrat că scăderea presiunii în artera renală reprezintă unul din factorii de stimulare a secreției de renină. Stimularea nervilor renali pe fondul scăderii presiunii arteriale determină o creştere mult mai pronunțată a eliberării acestei substanțe.

Un model experimental mai adecvat pentru urmărirea intervenției directe a nervilor renali asupra secreției de renină îl constituie cel al rinichiului izolat şi perfuzat. În aceste condiții Haulică şi colab. [71, 206] au urmărit implicațiile componentei simpatice locale prin stimularea electrică a capătului periferic al nervilor renali. S-a utilizat un curent de 10 V, frecvența de 3 c/sec. şi durata stimulului de 0,5 msec. Timpul de aplicare a excitantului a variat de la 30 la 80 sec.

Interpretarea rezultatelor obținute este dificilă, întrucât excitarea electrică a pediculului nervos renal a produs scăderea ARP în cea mai mare parte de experiențe, creşterea într-un număr mai redus de experiențe şi nici o modificare în două cazuri.

Răspunsurile discordante observate atât în cazul stimulării directe, cât şi atunci când fibrele nervoase simpatice renale au condus excitații mediate reflex au determinat pe autorii mai sus citați să ia în considerare posibilitatea existenței unor efecte duble de tip α- sau β- adrenergic.

1.1.5.3.2. Activarea reflexă a formațiunilor nervoase intrarenale

Variațiile presiunii sistemice ca dealtfel şi ale volumului sanguin reprezintă circumstanțe în care eliberarea reninei la nivelul AJG ar putea fi rezultatul stimulării neuroreflexe. Voloreceptorii extrarenali detectează variații ale masei sanguine circulante şi prin intermediul nervilor renali şi a catecolaminelor, antrenează fluctuații în eliberarea reninei. Numeroase cercetări demonstrează acțiunea stimulantă a hipovolemiei [207, 208, 209, 210]. Din contră, combaterea ei prin perfuzia de macromolecule la şobolani, previne hipersecreția de renină, chiar în condiții de depleție sodată, indusă

Scanned with OKEN Scanner

prin administrarea de diuretice [146]. Hipervolemia, realizată prin administrare de polivinilpirolidonă, aport crescut de sodiu sau administrare de NaCl şi aldosteron, determină efecte inverse. Aceste date pun în evidenţă existenţa unor mecanisme neuroreflexe ce intervin în eliberarea reninei de către rinichi.

În favoarea existenţei unor mecanisme reflexe de modificare a secreţiei de renină pe calea nervilor renali se citează şi rezultatele obţinute de grupul condus de Hodge care au găsit că blocarea nervilor renali cu lignocaină previne creşterea concentraţiei angiotensinei indusă prin hemoragie [70]. Deşi Hodge şi colab. au observat creşterea concentraţiei angiotensinei plasmatice, ca urmare a clampării carotidelor la câini anesteziaţi, interpretarea rezultatelor este foarte ambiguă [70]. Ei presupun că această creştere ar putea fi rezultatul sporirii ratei de generare a reninei probabil ca urmare a stimulării secreţiei de aldosteron ce apare în timpul ocluziei carotidiene. Dar, efectele cardiovasculare ale clampajului carotidelor sunt rezultatul scăderii presiunii la nivelul acestei zone reflexogene cu răsunet presor asupra vaselor arteriale. Nervii renali participă şi ei la răspunsul simpatico–adrenal respectiv aşa încât la nivelul rinichiului pot apărea modificări de flux sanguin ale presiunii arteriolare aferente şi implicit a filtrării glomerulare. Toate aceste modificări pot constitui stimuli posibili pentru eliberarea de renină prin reflexe cardiovasculare.

Discordanţa dintre efectele induse de stimularea sinusului carotidian, care produce variaţii mult mai mici ale secreţiei de renină decât hemoragia, determină pe autorii respectivi să considere că nici un baroreceptor din circulaţia sistemică nu prezintă importanţă deosebită în mecanismul de elaborare a reninei. Haulică şi colab. au urmărit secreţia de renină la câinii normali, neanesteziaţi care prezentau carotidele tunelizate, după un timp variabil de clampare completă a acestor artere [71].

În timpul obstruării carotidelor la animale în stare de veghe, ARP a prezentat, de asemenea, modificări în ambele sensuri sau a rămas nemodificată. De asemenea, în experienţele în care durata de obstruare a fost mărită, ARP nu a prezentat variaţii deosebite.

Fiind vorba de răspunsuri diferite de la un animal la altul sau chiar la acelaşi animal de la o zi la alta, declanşate cu participarea unor factori nervoşi şi umorali greu de identificat, într-o altă serie de experienţe s-au cercetat efectele scăderii presiunii la nivelul sinusului carotidian asupra ARP la câini anesteziaţi cu cloralozâ, concomitent cu înregistrarea presiunii sanguine din artera femurală.

Scanned with OKEN Scanner

Datele obținute în această a doua serie de experiențe par să evidențieze creșteri ale ARP în cazurile în care a apărut și răspuns presor evident după obstruarea arterelor carotide comune. În lipsa efectelor presoare ca urmare a obstruării, ARP a scăzut în unele cazuri, iar în altele a rămas practic nemodificată.

Creșterea ARP numai în prezența reacției simpatico-adrenergice atrage desigur atenția asupra participării simpaticului în producerea fenomenelor de activare a sistemului renină-angiotensină. În sprijinul acestui punct de vedere vin atât concordanța dintre nivelul ARP și al presiunii sanguine, cât și variațiile slabe sau chiar inversate ale secreției de renină după obstruarea carotidelor pe fond de denervare.

Este de reținut că în experiențele în care denervarea sinusurilor carotidiene a fost urmată de binecunoscuta hipertensiune de defrenare, s-a produs și creșterea valorilor ARP, în timp ce obstruarea carotidelor pe acest fond a determinat în două din cele trei cazuri scăderea activității reninice.

Pentru a disocia și evidenția eventuala componentă nervos centrală, marcată în aceste experiențe de răspunsul vascular periferic, într-o a treia variantă experimentală, Haulică și colab. au cercetat efectele blocării carotidelor comune sau excitării capătului central al vagului, în condițiile circulației cefalice încrucișate, asupra ARP în sângele venos renal al primitorului [71].

Metoda capului izolat preconizată de Heymars a suferit unele completări cu scopul de a realiza o izolare completă a circulației cefalo-somatice cu păstrarea măduvei spinării intacte [211]. Aceasta constă în separarea completă a capului animalului receptor de trunchi și intercalarea acestuia în circulația carotido–jugulară a animalului transfuzor.

Și în cazul acestor experiențe rezultatele nu au fost prea concludente, alăturându-se observațiilor anterioare în care particularități individuale dirijează reacția simpatico–adrenergică.

Passo și colab. au obținut însă o creștere marcată a ARP după stimularea ariei presoare bulbare [212, 213].

Creșterea secreției de renină, produsă de stimularea bulbară a fost însoțită cu regularitate de ridicarea marcată a valorilor presiunii sanguine.

Denervarea rinichiului realizează un răspuns divergent față de stimularea ariei presoare bulbare; în timp ce răspunsul presor rămâne nemodificat, concentrația reninei plasmatice nu mai suferă variații semnificative.

Aceste rezultate conduc spre singura alternativă posibilă că stimularea secreției de renină, în acest caz, este rezultatul creșterii descărcării simpatice generalizate, inclusiv la nivel renal. De altfel, Wise și Ganong

Scanned with OKEN Scanner

[214], Chai şi Wang [197] au descris acest fenomen de creştere a descărcării simpatice ca urmare a stimulării ariei presoare bulbare.

Observaţiile respective completează tabloul intervenţiei structurilor nervoase superioare în reglarea secreţiei de renină întrucât anterior, Ueda şi colab. [215] au arătat că stimularea mezencefalului este urmată de creşterea secreţiei de renină şi a presiunii sanguine, iar Blair şi Feigl [216] au obţinut stimularea renin-eliberării prin excitare hipotalamică.

Creşterea secreţiei de renină în aceste circumstanţe ar putea fi rezultatul şi al creşterii nivelului circulant al noradrenalinei întrucât aşa cum vom vedea ulterior, catecolaminele introduse în organism provoacă o eliberare sporită de renină [103, 198, 217].

Este cunoscut faptul că hipoxia sistemică determină nu numai hipoxie renală, ci şi descărcări simpatice reflexe şi secreţie crescută de catecolamine medulosuprarenale, având drept rezultat atât alterarea hemodinamicii renale, cât şi a reabsorbţiei tubulare. Pornind de la aceste considerente, Ishikawa şi colab. au studiat efectele hipoxiei renale asupra secreţiei de renină [218]. În condiţii de menţinere constantă a presiunii de perfuzie a rinichiului (120 mm Hg), hipoxia creată prin inspiraţia de amestec gazos sărac în oxigen (5 % oxigen, 95 % azot), timp de 5 minute, a determinat scăderea concentraţiei reninei în sângele venos recoltat din acest organ independent de nivelul catecolaminelor sanguine şi intervenţia simpatică renală.

Aceste observaţii sunt cu totul diferite de rezultatele publicate anterior de Oliwer şi Brody [219] care au obţinut creşterea eliberării de renină după hipoxie prelungită sau ale lui Huidobro şi Braun–Menendez [86] şi Skinner şi colab. [62] care nu au găsit nici o modificare a secreţiei de renină în hipoxia acută, realizată prin administrare de KCN, respectiv inspiraţie de oxigen la presiune scăzută.

Ishikawa şi grupul său interpretează această scădere a secreţiei de renină, obţinută prin deficit de oxigen, datorită probabil alterării încărcării cu sodiu a maculei densa, fie prin modificarea permeabilităţii pentru Na^+, fie printr-o perturbare a metabolismului aerob al celulelor maculare.

Incontestabilitatea intervenţiei sistemului nervos simpatic în controlul secreţiei de renină, alături de recunoaşterea rolului receptorilor de joasă presiune cardiopulmonari în reglarea presiunii arteriale, au condus anumite grupuri de cercetători să urmărească eventuale corelaţii între activitatea acestor baroreceptori şi secreţia de renină. Brennan şi colab. [172] au demonstrat că strech–receptorii de la nivelul atriului stâng sunt responsabili de inhibarea secreţiei de renină în timp ce scăderea gradată a presiunii în atriul drept este însoţită de creşterea progresivă a secreţiei de renină [173].

Scanned with OKEN Scanner

Aceste date sunt în acord cu observaţiile conform cărora aferenţele vagale influenţează secreţia de renină [174, 175].

Variaţiile de volum atrial activează deci receptori cardiopulmonari prin aferenţele vagale astfel realizate s-ar produce modularea descărcărilor în nervii simpatici renali determinând adaptarea secreţiei de renină în funcţie de circumstanţele date [176, 177].

1.1.5.4. IMPLICAŢII HORMONALE ÎN CONTROLUL SECREŢIEI DE RENINĂ

Numeroşi factori hormonali intervin în controlul secreţiei de renină, modulând mai ales eliberarea ei în torentul circulator. Dintre aceştia, catecolaminele şi Ang II deţin rolul cel mai important, însă nu sunt lipsiţi de importanţă nici vasopresina, ACTH şi peptidele natriuretice, NO, endotelinele etc.

1.1.5.4.1. Intervenţia catecolaminelor în controlul secreţiei de renină

Studiile care au urmărit variaţiile secreţiei de renină induse de activarea directă sau neuroreflexă a simpaticului renal au întrevăzut că acestea sunt, cel puţin în parte, rezultat al modificărilor nivelului concentraţiei catecolaminelor circulante.

Într-un studiu efectuat pe câini anesteziaţi cu cloraloză, Ueda şi colab. au observat că perfuzia de norepinefrină în cantităţi mai mici de 10 µg/kg/min. nu induce modificări ale activităţii reninei în sângele venos renal [215]. Din contră, doze mai mari de epinefrină produc o marcată creştere a secreţiei de renină, însoţită de creşterea presiunii sanguine, pentru ca după 30 de minute de la încetarea perfuziei, renina să revină treptat către valorile bazale atât în circulaţia sistemică, cât şi în sângele recoltat din vena renală.

Rezultatele obţinute de grupul condus de Ueda le confirmă, în parte, pe acelea publicate de Vander [103] şi Wathen şi colab. [198], care au arătat că dozele mici de norepinefrină nu produc nici o modificare a secreţiei de renină. Efectele dozelor mari sunt asemănătoare cu acelea observate anterior de acelaşi grup de cercetători, prin stimularea mezencefalului.

Răspunsul secretor al AJG la norepinefrină nu este afectat prin injectarea de dibenamină în artera renală.

Creşterea eliberării reninei indusă de norepinefrină se însoţeşte de reducerea fluxului sanguin renal, a filtrării glomerulare, volumului urinar şi excreţiei urinare a sodiului. Dibenamina blochează ultimele efecte ale norepinefrinei, în schimb eliberarea de renină nu este interesată. Se observă deci că modificările de hemodinamică renală sau de excreţie a sodiului nu sunt

Scanned with OKEN Scanner

necesare pentru procesul de schimbare a renin eliberării norepinefrin–dependentă. Această observaţie vine în dezacord cu ipoteza emisă de Vander [225], dar sprijină rezultatele publicate de Michelakis şi colab. [199] care au obţinut prin experienţe *in vitro* stimularea eliberării de renină de către norepinefrină. Se detaşează astfel ideea posibilităţii de influenţare directă prin catecolamine a proceselor chimice care stau la baza elaborării de renină. Întrucât mecanismul prin care secreţia de renină este influenţată de aminele presoare nu era clarificat până la etapa respectivă, s-a încercat ulterior să se opereze interferarea receptorilor adrenergici renali. Cercetările au fost canalizate pe două direcţii: pe de o parte prin urmărirea efectului de stimulare directă, iar pe de alta prin blocare specifică şi diferenţială a receptorilor.

Administrarea de izoproterenol (substanţă ce acţionează exclusiv pe calea β-receptorilor adrenergici) în circulaţia renală determină chiar la doze foarte mici (mai joase de 0,5 μg/kg/min.) creşterea ARP în sângele venos renal.

Posibilităţile de blocare selectivă a celor două grupe de receptori adrenergici a suscitat interes pentru un număr mai mare de cercetători. Astfel, Winer şi colab. au presupus că acţiunea a numeroşi stimuli capabili să modifice eliberarea reninei poate fi mediată prin intermediul α-sau β-receptorilor adrenergici [200].

Ueda şi colab. au observat o inhibiţie a procesului de stimulare a eliberării de renină prin izoproterenol după injectare de propanolol (blocant β-adrenergic) în cantitate de 1 mg/kg la câine [220].

Passo şi colab. au urmărit efectul blocării receptorilor adrenergici asupra fenomenului de stimulare reflexă (ca urmare a excitării unor arii ale bulbului rahidian) asupra eliberării de renină [212]. Administrând fenoxibezamină (blocant α-adrenergic) în cantitate de 3–6 mg/kg, autorii au observat o potenţare a efectului de stimulare a secreţiei de renină după excitarea bulbului. Propranololul, β-blocant, introdus în cantitate de 0,4 mg / kg reduce marcant acelaşi efect de stimulare a secreţiei de renină.

În încercarea de a găsi o explicaţie a acestor observaţii, Passo arată că în timp ce α-blocanţii reduc hemodinamica renală ca urmare a stimulării simpatice şi în acelaşi timp cresc secreţia de renină, propanololul induce modificări similare cu acelea produse de activarea α-receptorilor şi reducerea răspunsului reninic. Alăturând acestor observaţii rezultatele obţinute de Michalakis pe suspensie de rinichi *in vitro*, Passo ajunge la concluzia că atât catecolaminele circulante, cât şi acelea eliberate la nivelul terminaţiilor sim-

Scanned with OKEN Scanner

patice intrarenale acţionează direct asupra celulelor aparatului juxtaglomerular prin intermediul β-receptorilor.

Încercând să descifreze mecanismul prin care stimularea simpatică locală produce uneori activarea, iar alteori frânarea secreţiei de renină, Haulică şi colab. au practicat blocarea β-receptorilor adrenergici renali prin introducerea de alderlin (3–5 mg/l) în sângele de perfuzie al rinichiului izolat [71] (tabelul 1.5.).

Tabel 1.5. Valorile ARP în sângele de perfuzie a rinichiului de câine izolat în condiţiile excitării nervilor renali înainte şi după alderlin

Nr. exp.	ARP (μg/l)			
	Martor	Excitarea nervilor renali	Alderlin	Excitarea nervilor renali
1.	2,40	1,40	3,70	8,10
2.	9,11	8,70	8,33	9,61
3.	10,77	8,57	9,84	10,89
4.	8,53	10,48	13,68	13,88

Se observă că administrarea blocantului β-adrenergic determină creşterea conţinutului în renină în trei din cele patru experienţe, iar stimularea electrică a nervilor renali, pe acest fond, a crescut şi mai mult nivelul reninei în sângele efluent al rinichiului izolat. Aceste rezultate sunt interpretate în sensul participării β-receptorilor adrenergici la apariţia efectelor predominant inhibitorii, produsă de stimularea directă sau reflexă a componentei simpatice renale. Răspunsurile de tip excitator, mai rar întâlnite, apar probabil ca urmare a intrării în activitate a α-receptorilor.

În acest context se poate interpreta că răspunsul secretor reninic din cursul hemoragiei ar fi rezultatul fie a stimulării baroreceptorilor, fie a maculei densa la care se adaugă şi participarea nervilor renali. Luând în consideraţie implicaţiile componentei simpatice renale, Tenyi şi colab. au urmărit influenţa blocanţilor adrenergici în aceste circumstanţe [221]. Astfel, în timp ce blocanţii α-adrenergici de tipul fentolaminei, nu au nici un efect, propanololul reduce moderat, dar semnificativ, răspunsul hipersecretor cauzat de hemoragie.

Stimularea adrenosimpatică din cursul hipoglicemiei, indusă de administrarea de insulină, se însoţeşte de o creştere semnificativă a secreţiei de renină [222]. Administrarea de blocanţi α-adrenergici potenţează acest răspuns la hipoglicemie, în timp ce propranololul îl suprimă.

Scanned with OKEN Scanner

Desigur, aceste rezultate exemplifică suficient de elocvent participarea sistemului nervos simpatic şi în mod deosebit a β-receptorilor în mecanismul secreţiei de renină din cursul hemoragiei.

Participarea β-receptorilor adrenergici în procesul de eliberare a reninei de către celulele aparatului juxtaglomerular a fost evidenţiată şi în cazul anesteziei cu ketamină. Corssen şi Domino semnalează ridicarea nivelului presiunii sanguine şi a debitului cardiac în cursul anesteziei cu ketamină la oameni, pe care le atribuiau activării sistemului nervos simpatic [223]. Plecând de la aceste observaţii, Tanaka şi Pettinger au constatat că efectele cardiovasculare respective se însoţesc şi de modificări ale conţinutului în renină al plasmei sanguine [224]. Secreţia este dependentă de doza de ketamină administrată şi precede efectele cardiovasculare.

Desfăşurarea secvenţială a fenomenelor descrise anterior sugerează că efectele cardiovasculare ale ketaminei ar putea fi induse prin renina eliberată. De altfel, această supoziţie este susţinută şi de faptul că propanololul suprimă efectele induse de administrarea ketaminei.

Îndepărtarea sursei de renină prin nefrectomie, împiedică apariţia efectelor vasculare ale ketaminei, demonstrându-se astfel că acestea sunt rezultatul eliberării sporite de renină de către rinichi.

Făcând o analiză a datelor existente în literatură prin prisma rezultatelor proprii, Petrescu [72] şi Haulică [206] propun următoarea schemă privind intervenţia sistemului simpatico–adrenergic în mecanismul secreţiei de renină (figura nr 1.5.).

Interpretarea respectivă a influenţării directe a secreţiei de renină prin catecolamine a fost reluată de numeroşi alţi cercetători. Astfel, Churchill şi colab. [178] au pus în evidenţă că atât feliile de rinichi, cât şi suspensia de celule juxtaglomerulare răspund la adăugare de catecolamine în mediu de superfuzie. Aceşti cercetători au obţinut curbe doză (isoproterenol)–răspuns (secreţie de renină) pe felie de rinichi de şobolan. În timp ce secreţia bazală de renină a acestor preparate nu a fost modificată nici de timolol (β-antagonist neselectiv) nici de atenolol (β_1–antagonist specific), curba doză-răspuns la izoproterenol a fost deplasată la dreapta fără a influenţa însă panta. Autorii trag concluzia că izoproterenolul stimulează eliberarea de renină prin intermediul β_1–adrenoreceptorilor.

În acelaşi context se înscriu şi datele publicate de Holdaas şi colab. [179] care au obţinut pe rinichi cu filtrarea blocată creşterea secreţiei de renină după stimularea joasă a nervilor renali şi blocarea acestui răspuns după administrare de propanolol sau metoprolol.

Scanned with OKEN Scanner

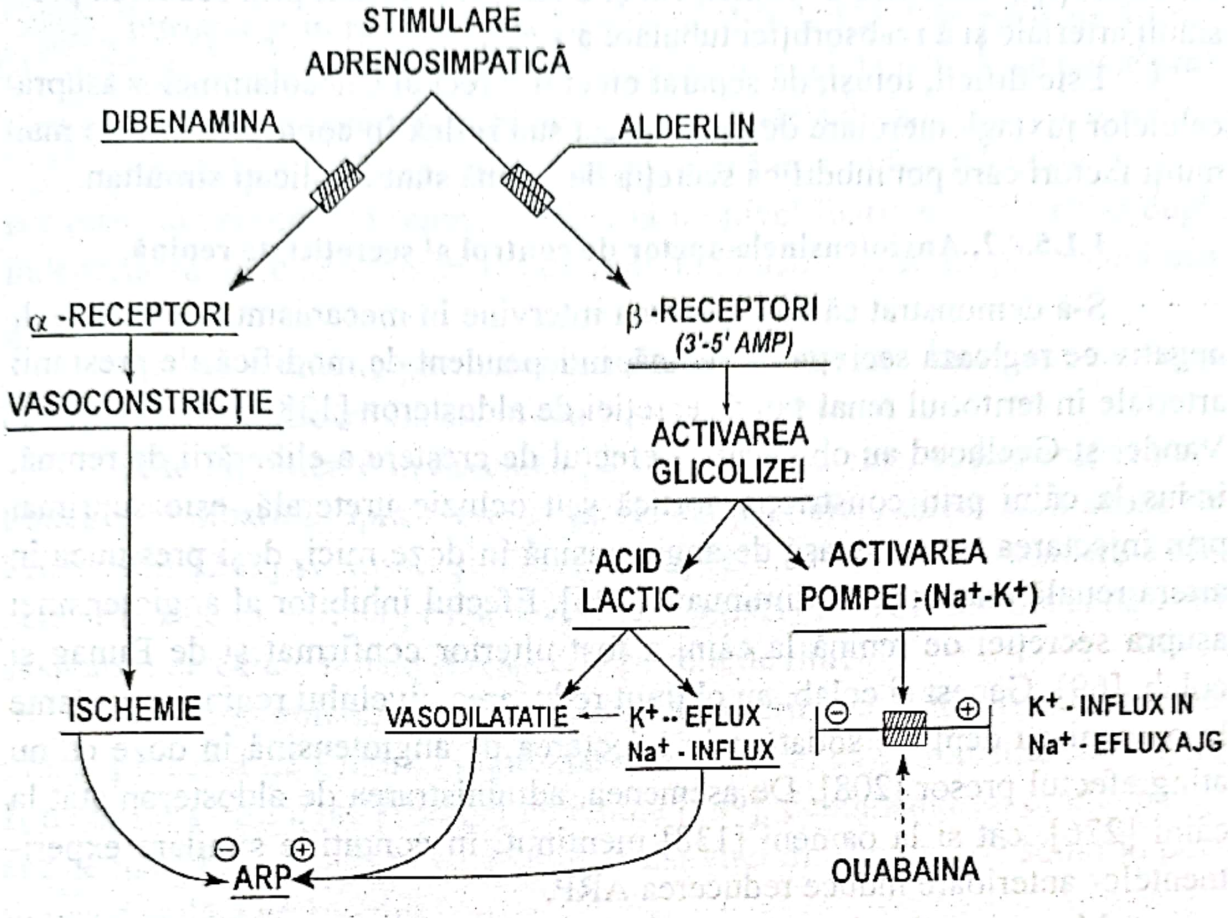


Figura 1.5. Posibile implicații ale sistemului nervos simpatic asupra secreției de renină.

Implicațiile β_1–adrenoreceptorilor în procesul de secreție a reninei au fost testate şi prin administrare intravenoasă sau direct în artera renală a epinefrinei [180]. Şi în aceste circumstanțe rata secreției de renină a crescut, dar nu numai în rinichiul perfuzat cu izoproterenol, ci şi în rinichiul controlateral, deşi concentrația izoproterenolului care a abordat acest rinichi a fost mult inferioară celei din rinichiul perfuzat direct. În aceste condiții s-a probat părerea formulată anterior [181] că şi β-receptori extrarenali ar interveni în controlul secreției de renină. Date similare au fost obținute utilizându-se prenalterolul–agonist al β_1–adrenoreceptorilor [182].

Cu siguranță şi α-receptorii adrenergici renali sunt implicați în controlul secreției de renină, mediind efectele de inhibare a eliberării reninei [183, 184], deşi date ulterioare susțin şi acțiuni de stimulare în anumite circumstanțe [185, 186, 187].

Scanned with OKEN Scanner

Prazosinul, antagonist direct al receptorilor α-adrenergici, creşte atât concentraţia plasmatică a reninei, cât şi a Ang II probabil prin scăderea presiunii arteriale şi a reabsorbţiei tubulare a sodiului [188].

Este dificil, totuşi, de separat efectul direct al catecolaminelor asupra celulelor juxtaglomerulare de cel indirect sau reflex în condiţiile în care mai mulţi factori care pot modifica secreţia de renină sunt implicaţi simultan.

1.1.5.4.2. Angiotensinele–factor de control al secreţiei de renină

S-a demonstrat că angiotensina intervine în mecanismul de feedback negativ ce reglează secreţia de renină, independent de modificările presiunii arteriale în teritoriul renal sau a secreţiei de aldosteron [138, 208, 225, 226]. Vander şi Geelhoed au observat că efectul de creştere a eliberării de renină, indus la câini prin constricţia aortică sau ocluzie ureterală, este suprimat prin injectarea intravenoasă de angiotensină în doze mici, deşi presiunea în artera renală era constant diminuată [226]. Efectul inhibitor al angiotensinei asupra secreţiei de renină la câini a fost ulterior confirmat şi de Bunag şi colab. [69]. Genest şi colab. au obţinut reducerea nivelului reninei circulante la oameni cu depleţie sodată prin injectarea de angiotensină în doze ce nu ating efectul presor [208]. De asemenea, administrarea de aldosteron atât la câini [226], cât şi la oameni [138] menţinuţi în condiţiile similare experimentelor anterioare induce reducerea ARP.

Mecanismul prin care acest feedback negativ îşi exercită acţiunea este încă incomplet cunoscut. Se poate însă preciza că nivelul plasmatic al angiotensinei poate juca un rol important în controlul secreţiei de renină. Tot aşa s-ar putea explica fenomenul descris în urma ridicării clampajului arterei renale din hipertensiunea de tip Goldblatt.

Se presupune că angiotensina ar acţiona direct la nivelul rinichiului întrucât perfuzia peptidului în artera renală scade secreţia de renină la oaia cu depleţie sodată, fără a avea însă efecte asupra presiunii sanguine sistemice [227].

Deosebit de interesante sunt datele obţinute de Vandongen şi colab. pe rinichiul de şobolan izolat şi perfuzat *in vitro* [228]. Ei au constatat necesitatea specificităţii structurale a angiotensinei nu numai pentru activitatea sa presoare, ci şi pentru efectul inhibitor asupra secreţiei de renină. Astfel, îndepărtarea fenilalaninei de la carbonul terminal determină dispariţia atât a efectelor presoare, cât şi a celui de inhibiţie a secreţiei de renină.

De asemenea, derivaţii de ^{5}Val–angiotensină 3–8, 4–8 şi 1–7 care nu au efect presor sau analogul său ^{1}Sar–^{8}Ala–angiotensina II nu produce inhibiţia secreţiei de renină, în timp ce heptapeptidul ^{5}Val–angiotensină

Scanned with OKEN Scanner

2–8 care are proprietăți vasoconstrictoare produce și inhibiția secreției de renină.

Întrucât și introducerea angiotensinei I în lichidul de perfuzie a rinichiului induce același efect inhibitor asupra secreției de renină, se poate preciza că acesta este rezultatul conversiei intrarenale a decapeptidului.

Efectul de inhibiție a secreției de renină este independent de cel presor întrucât secreția de renină rămâne la un nivel foarte coborât chiar după îndepărtarea vasoconstricției renale prin administrarea de izoproterenol sau glucagon.

Aceste rezultate pot fi explicate atât prin teoria barorecepției, cât și ca urmare a modificării încărcării cu Na^+ a tubului renal.

Alte argumente în favoarea părerii că angiotensina își manifestă acțiunea inhibitoare asupra secreției de renină prin efect direct sunt aduse de Michelakis [229] și Rosset și Veyrat [230] care au observat o scădere a eliberării bazale de renină prin adaus de $^{1}Asp\ (NH_2)$, ^{5} Val–angiotensină II în suspensia de celule renale și respectiv pe felii de rinichi.

Shade și colab., utilizând ca model experimental rinichi cărora li s-a blocat procesul de filtrare glomerulară au observat că administrarea de Ang II determină inhibarea secreției de renină [189]. Fenomenul nu este dependent de macula densa, deci nu este secundar alterării fluxului de sodiu în porțiunea distală a nefronului.

În sfârșit, Menard și colab. au arătat că în timpul administrării de inhibitori ai reninei la om, scăderea formării consecutive de Ang II pare să reprezinte stimulul major al eliberării de renină [413].

Mecanismul exact prin care angiotensina II își manifestă efectul inhibitor asupra secreției de renină și în aceste circumstanțe nu este clar. Se poate presupune însă că întrucât efectele izoproterenolului și glucagonului sunt mediate de către 3', 5'–AMP ciclizat [231] angiotensina II ar bloca sinteza acestui compus ca urmare a inhibării adenilciclazei.

1.1.5.4.3. Mecanismul de feedback vasopresină–renină

Dezvoltarea unui mecanism de feedback tubuloglomerular la care participă și macula densa care sesizează încărcarea cu sodiu și/sau clor a îndreptat atenția și asupra posibilelor implicații ale vasopresinei știut fiind faptul că acest hormon care are rolul de a conserva apa în organism contribuie la menținerea osmolarității plasmatice. În acest sens o serie de autori au arătat că administrarea acută sau cronică de vasopresină scade până la inhibiție secreția de renină [190, 191].

Scanned with OKEN Scanner

Acest efect al vasopresinei asupra secreției de renină se realizează prin intermediul receptorilor specifici, vasoconstrictori ai vasopresinei de tip V_1 [237], iar blocarea specifică a acestor receptori cu antagoniști de tipul 4-Val–8–D–AVP este urmată de creșterea nivelului plasmatic al reninei.

Întrucât administrarea generală a vasopresinei are multiple repercursiuni atât asupra nivelului presiunii arteriale, cât și asupra excreției de sodiu și a tonusului simpatic, este dificil de precizat mecanismul exact prin care acest hormon intervine asupra secreției de renină. Totuși, cel puțin în parte, activarea reflexelor baroreceptoare și modularea impulsurilor în nervii renali (simpatici) sunt de luat în considerație.

Administrarea directă a vasopresinei în artera renală la câine sau în perfuzatul rinichiului izolat produce scăderea eliberării de renină la doze mult inferioare celor injectate în circulația generală [238, 239]. Dacă la aceste observații se adaugă și cele obținute pe rinichi cu filtrarea glomerulară blocată se poate trage concluzia că vasopresina poate inhiba secreția de renină prin acțiune directă la nivelul celulelor juxtaglomerulare [240].

Această părere este susținută și de rezultatele obținute pe felii de zonă corticală renală în care vasopresina inhibă eliberarea de renină [241, 242].

Este clar deci că mecanismele care realizează scăderea acută a secreției de renină vasopresin–indusă sunt multiple și includ atât intervenții indirecte mediate de baroreceptori, ca și efecte directe asupra celulelor secretoare de renină.

Scăderea cronică a secreției de renină cu participarea vasopresinei sunt mai degrabă rezultat al creșterii volemiei [243, 244].

Secreția de renină poate fi influențată și de acetilcolină. Astfel, Abe și colab. au arătat că introducerea acetilcolinei în sângele care irigă rinichiul determină o creștere a fluxului sanguin total [104]. Aceste modificări de hemodinamică nu sunt uniforme în toate ariile zonei corticale, observându-se o creștere progresivă dinspre suprafață spre profunzimea acesteia.

Reducerea presiunii sanguine pe fondul de perfuzie cu acetilcolină determină o scădere semnificativă a fluxului sanguin total în rinichi, în timp ce rata fluxului în diferitele arii ale zonei corticale se menține la valori mai ridicate față de perioada inițială. În același timp cu modificările de flux amintite se produce o creștere brutală a conținutului în renină atât în sângele venos renal, cât și în cel colectat din circulația sistemică.

Efecte asemănătoare semnalaseră deja Tagawa și Vander [191] și Baer și colab. [233], așa încât se poate aprecia că ischemia corticală nu este factorul major care intervine în eliberarea de renină.

Scanned with OKEN Scanner

Scăderea presiunii arteriale la nivelul rinichiului, fie că este sau nu asociată de administrarea de acetilcolină, determină o scădere a fluxului filtrării glomerulare şi a eliminării sodiului prin urină. În aceste condiţii macula densa poate avea rol în stimularea secreţiei de renină [191, 234]. Abe şi colab. au arătat că reducerea presiunii de perfuzie în timpul ocluziei ureterale produce, de asemenea, creşterea secreţiei de renină, fără să se însoţească de nici o modificare a fluxului sanguin [104].

Aceste rezultate susţin posibilitatea de stimulare a baroreceptorilor din media arteriolei aferente întrucât în aceste experienţe, reducerea presiunii de perfuzie de la 142 la 105 mm Hg induce atât scăderea presiunii transmurale, cât şi a tensiunii peretelui vascular.

De asemenea, datele obţinute de Abe şi colab. pun în evidenţă mecanismul de autoreglare zonală realizat prin eliberarea unei cantităţi mai mari sau mai mici de renină [104]. Acetilcolina introdusă aboleşte acest fenomen de autoreglare, iar scăderea presiunii, pe acest fond, stimulează puternic eliberarea de renină.

În literatură sunt relatate numeroase observaţii care au precizat că atât excesul, cât şi deficitul în mineralocorticoizi este asociat cu scăderea respectiv creşterea secreţiei de renină [141, 142].

Modificările respective sunt interpretate diferit. Deşi unii cercetători susţin că ele se datoresc alterării balanţei sodate, majoritatea sunt de părere că se dezvoltă un mecanism de feedback într-un cadru mult mai larg al sistemului renină–angiotensină–aldosteron. Dintre ceilalţi hormoni glucagonul [235] şi chiar somatostatinul [236] exercită efecte renin–eliberatoare.

1.1.5.4.4. Peptide natriuretice implicate în controlul secreţiei de renină

Peptidele natriuretice interacţionează cu sistemul renină–angiotensină şi cu aldosteronul în numeroase puncte de impact. Dintre acestea viu discutate sunt şi efectele de inhibare a secreţiei de renină.

Studii efectuate pe voluntari normali au arătat că uşoare creşteri ale concentraţiei plasmatice a ANF sunt urmate de o scădere rapidă şi fără echivoc a cantităţii de renină şi respectiv Ang II circulante [245, 246, 247]. Răspunsul la administrarea de ANF al organismelor sănătoase este influenţat de o serie de circumstanţe cum ar fi modalitatea de administrare (bolus sau perfuzie continuă), poziţia, doza de ANF, ritmurile nictemerale ale diferiţilor hormoni etc. [248, 249, 250]. ANF reduce eliberarea de renină indusă prin administrarea de furosemid şi izoproterenol [251], prostaglandine [252] şi captopril [253].

Reducerea concentraţiei reninei plasmatice de către ANF s-a observat şi la persoane atât în depleţie sodată, cât şi cu încărcare de sodiu, deşi efectele sunt mai mari la oameni cu sodemie scăzută.

Scanned with OKEN Scanner

Interrelațiile dintre nivelul ANF plasmatic și ARP au fost studiate și la bolnavi hipertensivi și la cei cu insuficiență cardiacă. Efecte similare celor descrise anterior au fost înregistrate și la subiecții hipertensivi [254]. Deși tabloul neurohormonal al subiecților cu insuficiență cardiacă este foarte complex în care se detașează nivelul plasmatic crescut atât al ANF, cât și al reninei, Cody și colab. [250] au publicat date care prezentau că perfuzia de ANF în doză de 40 pmol/kg/min. determină scăderea nivelului activității reninei plasmatice. Cercetări experimentale realizate pe animale cu insuficiență cardiacă au pus în evidență că cel puțin în stadiile inițiale ale acestora ANF modulează secreția de renină [255, 256, 257].

În explicarea mecanismelor prin care ANF inhibă secreția de renină s-au detașat următoarele aspecte:

- vasodilatația generată la nivelul arteriolei aferente de către ANF ar acționa prin intermediul baroreceptorilor de la acest nivel [258];
- creșterea ratei sodiului oferit maculei densa [259];
- acțiune directă a ANF asupra celulelor juxtaglomerulare [260, 261];
- ANF ar reduce rata potențialelor de acțiune în fibrele nervoase simpatice care inervează aparatul juxtaglomerular [262, 263]

1.1.5.4.5. Rolul factorilor biologic activi derivați din endoteliu în reglarea secreției de renină

Secreția de renină de către celulele juxtaglomerulare se realizează în imediata vecinătate a endoteliului arteriolar. Este lesne de presupus că hormonii care intervin în reglarea secreției de renină interacționează mai întâi cu celulele endoteliale și apoi influențează celulele juxtaglomerulare. În aceste circumstanțe endoteliul poate regla metabolismul celulelor juxtaglomerulare, inclusiv eliberarea de renină, în aceeași manieră ca și vasomoția și funcția trombocitelor (figura 1.6.).

Primele studii întreprinse au arătat că stimularea producției de NO de către endoteliul arterelor perfuzate cu acetilcolină sau de către celulele endoteliale în cultură cu bradikinină, inhibă eliberarea reninei [264]. Acest efect a fost reprodus și cu L–arginină (precursor al NO), în timp ce albastru de metilen, un inhibitor al activării guanilat ciclazei solubile, crește nivelul bazal al eliberării de renină [265]. Rolul cGMP (mesagerul intracelular prin care NO își realizează efectele) a fost confirmat de studii care au precizat că eliberarea de renină este inhibată de agenți care cresc nivelul cGMP în celulele juxtaglomerulare [266].

Scanned with OKEN Scanner

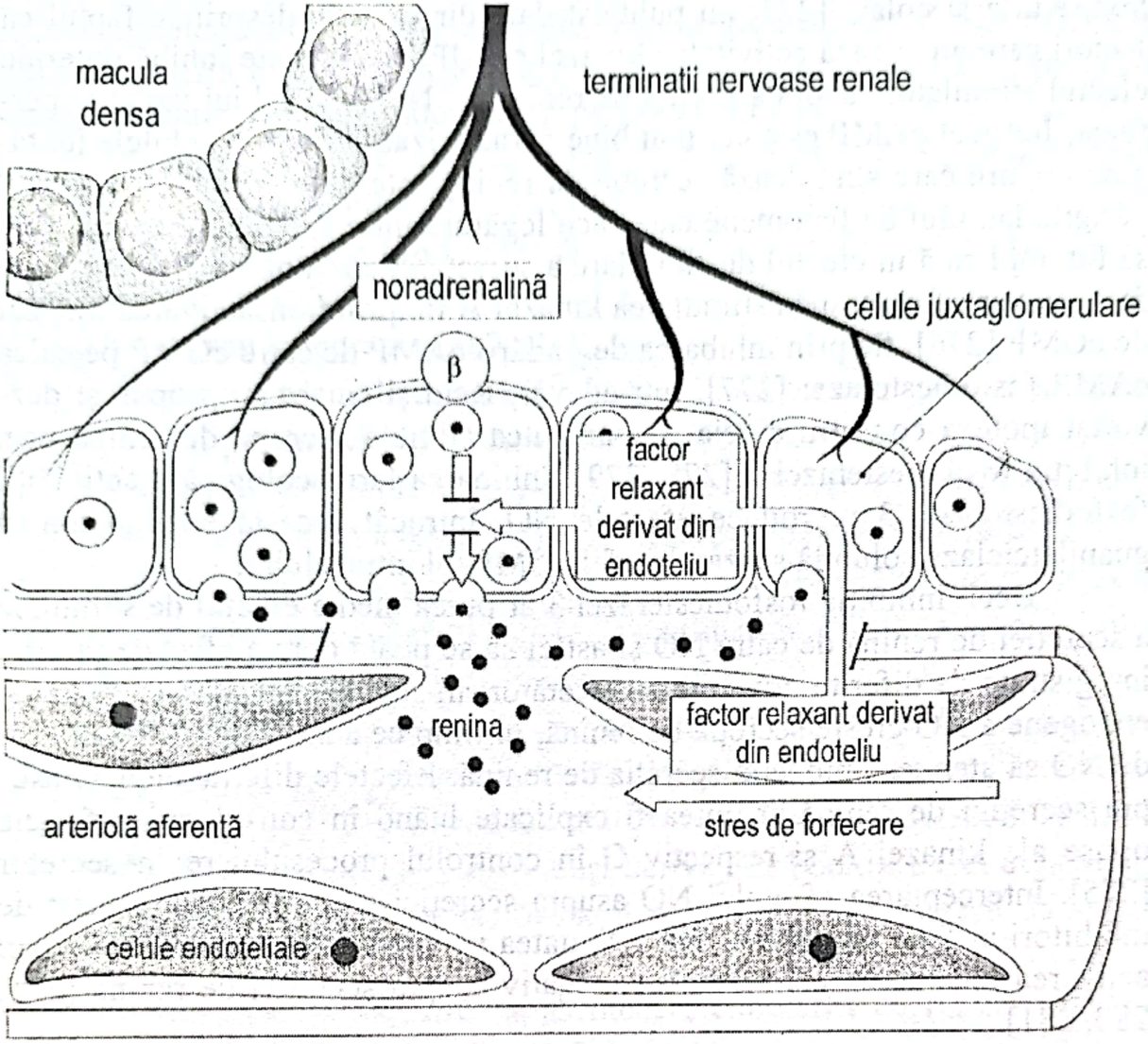


Figura 1.6. Posibile intervenţii ale oxidului nitric în modularea secreţiei de renină [246].

Deoarece sinteza şi eliberarea de NO este crescută în stresul de forfecare, nitraţii endogeni ar fi responsabili de modificările directe ale eliberării de renină în urma variaţiilor presiunii de perfuzie în artera renală [267].

Cercetări ulterioare au scos în evidenţă că atât secreţia de renină, cât şi expresia genică a reninei *in vivo* sunt inhibate de inhibitori ai NO–sintazei [268, 269, 270, 271], iar donorii de NO stimulează secreţia de renină *in vivo* şi pe rinichiul izolat şi perfuzat [272, 273, 274, 275]. Cum NO îşi realizează efectele intracelulare prin intermediul cGMP–protein kinaze dependente şi cum activatori ai cGMP inhibă secreţia de renină s-a sugerat că efectele inhibitoare s-ar realiza prin G–kinază. Una din posibilităţile de explicare care ar putea fi luată în consideraţie pentru a se admite efectele divergente ale NO asupra secreţiei de renină atât în cazul rinichiului intact, cât şi al celulelor juxtaglomerulare izolate ar consta în derularea unui mecanism com-

Scanned with OKEN Scanner

plex de semnalizare care ar depinde de factori diferiţi de NO. În acest context, Kurtz şi colab. [275] au publicat date din care se desprinde faptul că factori care atenuează activitatea kinazei cAMP–dependente inhibă puternic efectul stimulator asupra secreţiei de renină de NO în rinichiul izolat şi perfuzat. Întrucât cAMP este cel mai bine caracterizat factor din celulele juxtaglomerulare care stimulează secreţia de renină este de conceput că una din verigile lanţului de fenomene care face legătura între NO şi cAMP ar putea să fie implicată în efectul de stimulare a secreţiei de renină de către NO. De fapt, NO ar putea realiza stimularea kinazei A fie prin transactivarea kinazei de cGMP [276], fie prin inhibarea degradării cAMP de către cGMP pe calea cAMP fosfodiesterazei [277]. Într-adevăr, Reid şi colab. au propus şi dezvoltat ipoteza conform căreia NO ar putea stimula secreţia de renină prin inhibiţia fosfodiesterazei 3 [278, 279]. Inhibarea farmacologică a activităţii fosfodiesterazei 3 reproduce efectele NO, întrucât această enzimă inhibă guanilatciclaza solubilă scăzând astfel cGMP–ul intracelular.

Deci, inhibiţia fosfodiesterazei 3 ar putea media efectul de stimulare a secreţiei de renină de către NO şi astfel să se poată corela efectele diferite înregistrate de diferite grupuri de cercetători în sensul că inhibarea formării endogene a NO creşte secreţia de renină, în timp ce administrarea de donori de NO să atenueze moderat secreţia de renină. Efectele diferite ale NO asupra secreţiei de renină ar putea fi explicate luând în consideraţie efectele opuse ale kinazei A şi respectiv G în controlul procesului renin–secretor [275]. Interceptarea efectului NO asupra secreţiei de renină este scurtat de inhibitori ai fosfodiesterazei, iar activitatea reziduală a NO s-ar realiza prin activarea kinazei G, care are efect negativ asupra secreţiei de renină [275, 280, 281].

Pe baza datelor obţinute, Kurtz şi colab. [282] trag concluzia că efectul stimulator al NO asupra secreţiei de renină este mediat de fosfodiesteraze mai ales în condiţiile stimulării baroreceptorilor sau a maculei densa, în timp ce donorii de NO cum ar fi nitroprusiatul de sodiu ar acţiona prin cAMP care ar activa kinaza A intracelulară.

Eficacitatea inhibării fosfodiesterazei asupra creşterii nivelului intracelular al cAMP depinde de rata de formare a acestuia, deci în funcţie de activarea adenilatciclazei. Din acest motiv se pot înregistra diferenţe de interpretare a intervenţiei NO pe culturi de celule juxtaglomerulare faţă de observaţiile realizate pe rinichi intact *in situ*. Astfel, inhibiţia fosfodiesterazei reclamă un timp mai îndelungat în cazul celulelor juxtaglomerulare izolate faţă de rinichiul *in situ* la care se acumulează cAMP suficient pentru a produce stimularea secreţiei de renină.

Membrana celulelor juxtaglomerulare este formată din două seturi de canale de potasiu voltaj–senzitive. Unul din aceste tipuri de canale este activat în timpul hiperpolarizării [283]. Nu se cunoaşte însă dacă substanţele

Scanned with OKEN Scanner

vasodilatatoare îşi realizează efectul prin fenomene mediate de hiperpolarizarea endoteliu–dependentă a celulelor juxtaglomerulare [284, 285]. De fapt, nu există date care să ateste posibilitatea de modulare a secreţiei de renină de către „factorii endoteliali hiperpolarizanţi".

Administrarea de acid arahidonic, PGE2 sau prostaciclină este urmată de creşterea secreţiei de renină ca urmare a producţiei de cAMP în celulele juxtaglomerulare [286, 287, 288]. Inhibitori ai ciclooxigenazei scad activitatea reninei plasmatice bazale şi a celei stimulate prin scăderea perfuziei renale sau hemoragie [289, 290].

Izoproterenolul determină eliberarea de renină în vasele antebraţului la pacienţii hipertensivi [291]. Aceste observaţii scot în evidenţă că cAMP induce eliberarea de renină şi în afara rinichiului. Sursa vasculară de renină este reprezentată de endoteliul vascular deoarece creşterea nivelului cAMP în celulele endoteliale este urmată de o producere sporită de Ang II şi Ang III [292]. Aceste date sugerează că prostaciclina sau PGE2, alături de catecolamine, pot modula eliberarea reninei în periferie.

Derivaţii 12– şi 15– ai lipoxigenazei, 12– şi 15– acidului hidroxiperoxi–6,8,11,14–eicosatetraenoic (HPETE) şi 12– şi 15- acidului hidroxieicosatetraenoic (HETE) inhibă eliberarea reninei pe felii de zonă corticală renală [293]. Probabil că aceşti produşi derivaţi ai lipoxigenazei acţionează ca mediatori în răspunsul de feedback al Ang II asupra eliberării de renină [294].

Serotonina stimulează, de asemenea, eliberarea de renină de către celulele juxtaglomerulare renale.

Endotelina (ET), prin acţiunile sale vasoconstrictoare sistemice şi renale poate să inhibe secreţia de renină prin intermediul baroreceptorilor [288]. Endotelina 1 se găseşte din abundenţă în rinichi [295]. Este posibil ca eliberarea locală a ET_1 indusă de agenţi presori ca Ang II sau vasopresina să contribuie la procesul de inhibiţie prin feedback a secreţiei de renină la nivelul rinichiului. Aceste supoziţii sunt întărite şi de observaţiile conform cărora ET_1 inhibă eliberarea reninei pe rinichiul izolat şi perfuzat [296], glomeruli de şobolan în suspensie [296] şi celule juxtaglomerulare *in vitro* [297].

Interrelaţiile dintre ET_1 şi sistemul renină–angiotensină sunt multiple întrucât în afară de inhibiţia doză–dependentă a sintezei de renină acest peptid contribuie la răspunsul hipertrofic al cardiomiocitelor de către Ang II, potenţează efectele aldosterono–eliberator, vasoconstrictor şi fibrinogenic al Ang II etc. [298, 299].

Scanned with OKEN Scanner

1.1.5.5. MECANISMUL DE TRADUCERE INTRACELULARĂ A ACȚIUNII SEMNALELOR CARE MODULEAZĂ SECREȚIA DE RENINĂ

Procesele prin care celulele juxtaglomerulare integrează variatele semnale secretorii sunt incomplet cunoscute. Mediatorii intracelulari legați de procesul de cuplare a excitației cu secreția de renină în celulele juxtaglomerulare, cei mai studiați sunt ionii de calciu, cAMP şi prostaglandinele. Aceştia fac oficiul de traducere intracelulară a interacțiunii dintre factorii modulatori ai secreției de renină şi celulele juxtaglomerulare.

Majoritatea autorilor susțin că nivelul calciului citosolic reprezintă calea finală comună în răspunsul renin–secretor al celulelor juxtaglomerulare. Este cunoscut faptul că ionul de calciu reprezintă mesagerul intracelular de cuplare a procesului de excitație–secreție glandulară şi excitație–contracție în miocitele netede. Cum celulele granulare juxtaglomerulare sunt celule musculare netede modificate este lesne de presupus că acest ion intervine în realizarea răspunsului de secreție a reninei. Însă, în aceste celule ionul de calciu acționează în mod paradoxal întrucât scăderea concentrației şi nu creşterea sa în citozol produce creşterea secreției de renină [300].

În momentul creşterii presiunii de perfuzie a rinichiului deasupra valorilor normale secreția de renină scade prin mecanism baroreceptor la care, probabil, se adaugă şi mecanismele declanşate de macula densa şi de stimulare simpatică, realizându-se astfel procesul de autoreglare a hemodinamicii renale. Atât scăderea secreției de renină cât şi variațiile consecutive de tonus muscular arteriolar se produc prin creşterea calciului citozolic.

AMP ciclic este considerat un alt mediator posibil care intervine în cuplarea procesului de stimulare–secreție în celulele juxtaglomerulare ca urmare în special a activării receptorilor β-adrenergici. Yamamoto şi colab. au introdus în artera renală dibutiril AMP ciclic şi au observat o creştere a conținutului în renină atât a sângelui recoltat din vena renală, cât şi din sângele arterial sistemic [304]. În acelaşi timp a crescut şi rata secreției de renină. Datele respective sunt similare cu rezultatele obținute de Hanger–Klevene [305] la şobolan şi Allison şi colab. [306] la câine. Continuarea perfuziei cu d-AMP–ciclic timp de 50–60 de minute se însoțeşte de scăderea nivelului ARP din sângele venos renal în timp ce în circulația arterială sistemică renină se găseşte tot la valori ridicate.

Concomitent cu aceste modificări, d-AMP ciclic determină şi creşterea fluxului sanguin renal, diurezei şi a excreției de sodiu. Toți aceşti parametri revin la valorile de control după încetarea perfuziei. Cum d-AMP ciclic determină creşterea fluxului sanguin renal (FSR) şi a excreției de Na^+, fără nici o modificare a presiunii sanguine sistemice, efectul de stimulare a secreției de renină nu poate fi explicat prin clasica teorie a barorecepției sau a maculei densa.

Scanned with OKEN Scanner

Acelaşi aspect al eliberării de renină a fost urmărit de grupul condus de Yamamoto şi pe felii de cortex renal [304]. Introducerea în mediul de d–AMP–ciclic este urmată de un efect bifazic: într-o primă perioadă de timp (30 de minute) se produce stimularea renin–eliberării (20 %) pentru ca ulterior (120 de minute) să se observe un efect de deprimare.

De asemenea, d–AMP–ciclic stimulează şi eliberarea reninei atunci când este introdus în fracţia ce conţine granule de renină rezultată în urma centrifugării omogenatelor de cortex renal.

Ca o concluzie a acestor experienţe, Yamamoto şi colab. precizează că AMP–ciclic ar media procesul de stimulare a secreţiei de renină prin efect β-adrenergic [304]. Această părere este susţinută şi de experienţele anterioare care arătau că teofilina (inhibitor al fosfodiesterazei) stimulează eliberarea de renină la oameni şi câine [200, 307, 308].

Într-adevăr, AMP poate fi considerat ca principal mesager intracelular al secreţiei de renină la nivelul rinichiului, în timp ce ionul de calciu ar media procesul de inhibare a secreţiei [301]. De altfel, efectul stimulator al cAMP s-ar putea realiza prin scăderea concentraţiei calciului din celulele juxtaglomerulare [302] întrucât pompele şi canalele membranare, kinaza calciu calmodulin dependentă ar putea fi reglate de fosforilările dependente de cAMP [303].

Locul şi rolul exact al mesagerilor intracelulari în procesul de stimulare sau inhibare a secreţiei de renină este încă absent, deşi anumite interrelaţii moleculare legate de sinteză, stocarea şi secreţia reninei au fost scoase în relief.

1.1.5.6. ASPECTE PARTICULARE PRIVIND MECANISMELE DE CONTROL AL SECREŢIEI DE RENINĂ

Deosebit de interesante sunt observaţiile asupra secreţiei de renină obţinute în condiţiile în care organismul este solicitat prin mai multe verigi neuro–hormonale, aşa cum se întâmplă în cazul modificărilor posturale, a efortului fizic, acceleraţiei pozitive.

1.1.5.7. SECREŢIA DE RENINĂ ÎN HIPERTENSIUNEA ARTERIALĂ EXPERIMENTALĂ

Utilizarea nivelului reninei plasmatice ca indicator al variaţiilor de secreţie a reninei de către rinichi la animale cu hipertensiune Goldblat unilaterală nu este adecvată întrucât el reprezintă rezultanta ratei de secreţie a ambilor rinichi. Pentru a înlătura acest neajuns s-a urmărit nivelul plasmatic al reninei în vena renală. Astfel, clamparea unilaterală a arterei renale determină creşterea conţinutului în renină a rinichiului cotrolateral rămas intact, în timp ce la animale cu nefrectomie unilaterală, nu se observă nici o modificare.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultatele sunt compatibile cu ambele interpretări atât stimulării baroreceptorilor, cât şi receptorilor maculari. Astfel, conform teoriei barorecepţiei modificările ar reflecta scăderea presiunii de pefuzie a rinichiului clampat şi creşterea ei în rinichiul rămas intact. Dar, teoria baroreceptoare este confruntată cu unele neclarităţi:

1. rinichiul rămas intact conţine renină din ce în ce mai puţină pe măsură ce de dezvoltă hipertensiunea;

2. în cursul unei eventuale diete cu restricţie de sodiu conţinutul în renină al rinichiului normal creşte deşi sindromul hipertensiv suferă variaţii foarte mici sau nu prezintă nici o modificare [141, 309, 310];

Adepţii teoriei maculare rezolvă aceste observaţii în felul următor: variaţiile conţinutului renal în renină ar fi rezultatul modificărilor fluxului de filtrare glomerulară şi astfel reabsorbţia sodiului va fi diferită în rinichiul clampat faţă de cel rămas normal. Constricţia unilaterală a arterei renale scade fluxul de filtrare glomerulară şi excreţia sodiului în rinichiul cu strictură arterială şi produce creşterea parametrilor respectivi în rinichii intacţi. Ridicarea obstacolului creat este urmată de creşterea fluxului filtrării glomerulare, iar excreţia de sodiu revine la nivelul dinaintea constricţiei.

Desigur, alt factor care ar putea interveni în reducerea conţinutului în renină al rinichiului normal din cursul modelului experimental precedent ar fi angiotensina formată local.

1.1.5.8. VARIAŢII ALE SECREŢIEI DE RENINĂ ÎN CURSUL SCHIMBĂRILOR POSTURALE

Poziţia ortostatică sau înclinată determină o creştere rapidă a concentraţiei plasmatice a reninei [81, 311]. Explicând contextul hemodinamic din timpul modificărilor posturale, variaţiile secreţiei de renină pot fi interpretate ca fiind iniţiate atât la nivelul baroreceptorilor, cât şi în zona maculei densa. Gordon şi colab. au arătat că în aceste condiţii, participarea sistemului nervos simpatic este indispensabilă [312].

1.1.5.9. INFLUENŢA EFORTULUI FIZIC ASUPRA SECREŢIEI DE RENINĂ

Efortul fizic implică antrenarea tuturor funcţiilor organismului, întrucât contracţiile musculare deşi aparent sunt manifestări specifice ale activităţii ţesutului muscular, se integrează în modul de manifestare al organismului ca un tot unitar care asigură sinergiile funcţionale, ca urmare a punerii în activitate a tuturor sistemelor şi aparatelor organismului.

Travaliul muscular din cursul efortului fizic nu se poate realiza fără o sporire adecvată a aportului de substanţe energetice, fără intensificarea proceselor metabolice şi desigur fără creşterea eliminării substanţelor rezultate în urma reacţiilor biochimice.

Modificările care se produc sub influenţa efortului fizic sunt determinate şi reglate de sistemul nervos central cu participarea glandelor endo-

Scanned with OKEN Scanner

crine. În acest context, un rol deosebit îl are sistemul nervos vegetativ şi axul hipotalamo–hipofizaro–suprarenal în vederea menţinerii homeostaziei organismului.

Cum printre factorii de reglare a eliberării de renină, sistemul nervos simpatic şi corticosuprarenala intervin la nivelul aparatului juxtaglomerular, prin mecanisme încă incomplet elucidate, s-a căutat să se analizeze dacă efortul fizic, ca modalitate de activare indirectă a celor două verigi, determină variaţii ale activităţii sistemului renină–angiotensină–angiotensinază.

În acest sens s-a dozat ARP la câini de ambele sexe înainte şi după alergare pe bandă rulantă (viteza de derulare 15 km / oră) timp de 20 de minute (tabelul 1.6.).

Se poate observa că efortul fizic instituit determină variaţii diferite ale reninei plasmatice. La unele animale de experienţă ARP creşte [3,5,6,15] la altele [1,4,8,10] se produce o scădere, iar la restul câinilor apar variaţii nesemnificative, atât de creştere, cât şi de scădere. Se remarcă, de asemenea, că efectul de creştere a reninei plasmatice este mai pronunţat decât efectul de scădere.

Aceiaşi parametri s-au urmărit şi la oameni normotensivi de ambele sexe. S-a efectuat un efort fizic moderat cu ajutorul unui cicloergometru (110 W, cu 60 de turaţii/min.), timp de aproximativ 3–5 minute, până la apariţia semnelor subiective de oboseală.

Tabelul 1.6. Influenţa efortului fizic asupra activităţii reninei plasmatice la câini (metoda Boucher)

Nr. exp.	Sexul	ARP (μg/l)		Hematocritul	
		Înainte	După	Înainte	După
1.	M	1,92	1,05	40	45
2.	M	2,46	3,14	37	38
3.	M	10,40	11,6	45	45
4.	F	10,00	8,42	46	46
5.	F	3,12	6,87	52	51
6.	M	7,50	13,30	50	49
7.	F	7,88	6,25	48	48
8.	F	7,42	6,00	45	47
9.	F	12,32	10,96	46	49
10.	M	12,64	9,85	43	44
11.	F	7,51	9,14	44	47
12.	M	4,11	3,81	47	48
13.	F	7,53	5,02	45	45
14.	M	11,50	12,75	48	50
15.	F	13,30	18,50	45	48
	Media ARP	7,84 ± 3,88	8,44 ± 4,33		

Scanned with OKEN Scanner

Se poate observa că în cele mai multe cazuri renina plasmatică nu prezintă modificări deosebite, ci doar uşoare variaţii în plus sau în minus faţă de valoarea iniţială (figura 1.7.).

În unele cazuri [1,5,12] ARP a scăzut după efortul fizic respectiv, iar în altele renina nu a putut fi decelată nici înainte, dar nici după efort.

Efortul fizic maximal determină la sportivii antrenaţi o creştere a ARP de la valoarea medie de 4,68 ± 1,8 µg/l la 6,85 ± 3,8 µg/l. Mai precis, cu excepţia unui sportiv la care renina nu s-a modificat, fenomenul de creştere a ARP după efort este prezent la toţi subiecţii testaţi (tabelul 1.7.).

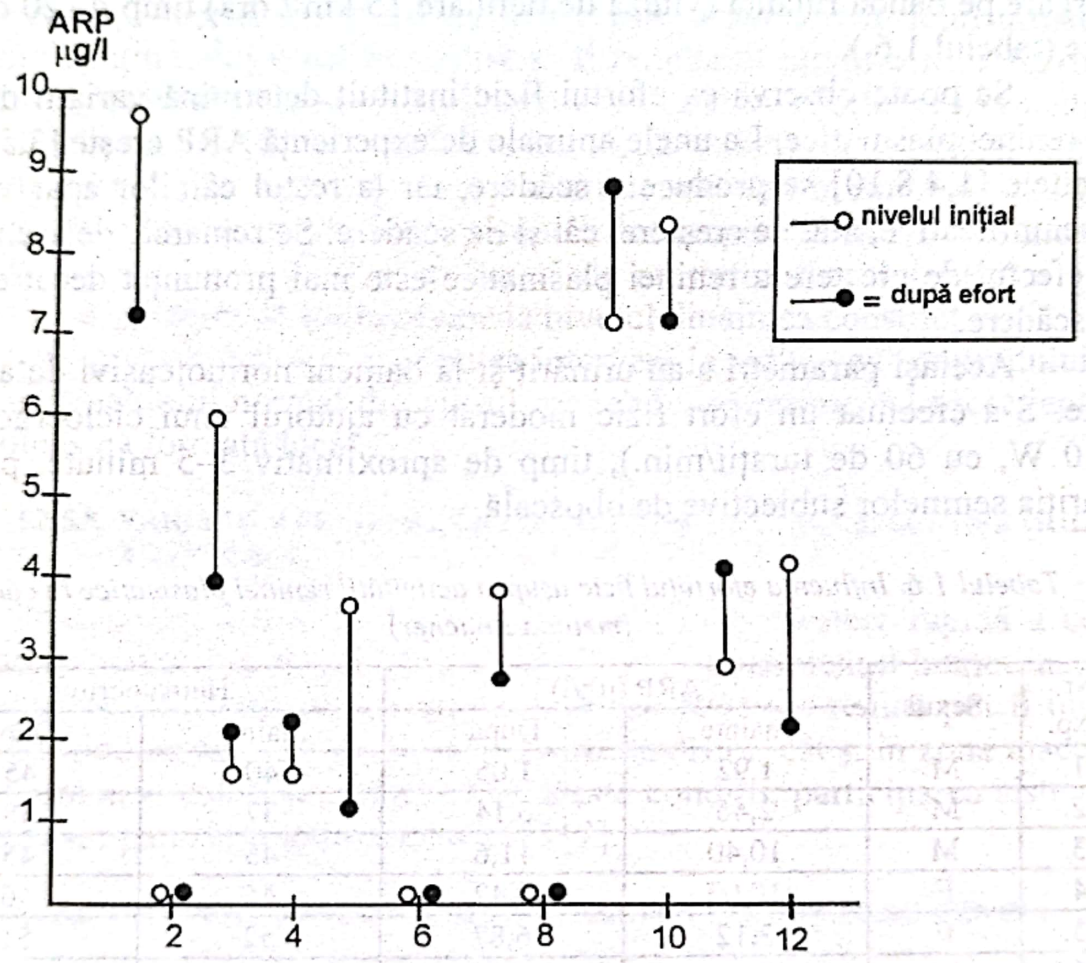


Figura 1.7. Nivelul activităţii reninei plasmatice la oameni normotensivi în repaus şi după efort fizic.

Pentru a obţine unele indicaţii asupra mecanismului prin care efortul fizic maximal, în condiţiile subiectului antrenat, determină creşterea activităţii reninei plasmatice, s-a urmărit acest parametru pe parcursul a 6 săptămâni de antrenare a câinilor prin alergare pe bandă rulantă (tabelul 1.8.). Efortul fizic instituit a fost gradat pentru o viteză de derulare de 15 km/oră. În prima săptămână s-a alergat timp de 20 de minute, apoi timpul a crescut treptat câte 5 minute după fiecare săptămână de antrenament.

Scanned with OKEN Scanner

crine. În acest context, un rol deosebit îl are sistemul nervos vegetativ şi axul hipotalamo–hipofizaro–suprarenal în vederea menţinerii homeostaziei organismului.

Cum printre factorii de reglare a eliberării de renină, sistemul nervos simpatic şi corticosuprarenala intervin la nivelul aparatului juxtaglomerular, prin mecanisme încă incomplet elucidate, s-a căutat să se analizeze dacă efortul fizic, ca modalitate de activare indirectă a celor două verigi, determină variaţii ale activităţii sistemului renină–angiotensină–angiotensinază.

În acest sens s-a dozat ARP la câini de ambele sexe înainte şi după alergare pe bandă rulantă (viteza de derulare 15 km / oră) timp de 20 de minute (tabelul 1.6.).

Se poate observa că efortul fizic instituit determină variaţii diferite ale reninei plasmatice. La unele animale de experienţă ARP creşte [3,5,6,15] la altele [1,4,8,10] se produce o scădere, iar la restul câinilor apar variaţii nesemnificative, atât de creştere, cât şi de scădere. Se remarcă, de asemenea, că efectul de creştere a reninei plasmatice este mai pronunţat decât efectul de scădere.

Aceiaşi parametri s-au urmărit şi la oameni normotensivi de ambele sexe. S-a efectuat un efort fizic moderat cu ajutorul unui cicloergometru (110 W, cu 60 de turaţii/min.), timp de aproximativ 3–5 minute, până la apariţia semnelor subiective de oboseală.

Tabelul 1.6. Influenţa efortului fizic asupra activităţii reninei plasmatice la câini (metoda Boucher)

Nr. exp.	Sexul	ARP (µg/l)		Hematocritul	
		Înainte	După	Înainte	După
1.	M	1,92	1,05	40	45
2.	M	2,46	3,14	37	38
3.	M	10,40	11,6	45	45
4.	F	10,00	8,42	46	46
5.	F	3,12	6,87	52	51
6.	M	7,50	13,30	50	49
7.	F	7,88	6,25	48	48
8.	F	7,42	6,00	45	47
9.	F	12,32	10,96	46	49
10.	M	12,64	9,85	43	44
11.	F	7,51	9,14	44	47
12.	M	4,11	3,81	47	48
13.	F	7,53	5,02	45	45
14.	M	11,50	12,75	48	50
15.	F	13,30	18,50	45	48
	Media ARP	7,84 ± 3,88	8,44 ± 4,33		

Scanned with OKEN Scanner

Se poate observa că în cele mai multe cazuri renina plasmatică nu prezintă modificări deosebite, ci doar uşoare variaţii în plus sau în minus faţă de valoarea iniţială (figura 1.7.).

În unele cazuri [1,5,12] ARP a scăzut după efortul fizic respectiv, iar în altele renina nu a putut fi decelată nici înainte, dar nici după efort.

Efortul fizic maximal determină la sportivii antrenaţi o creştere a ARP de la valoarea medie de 4,68 ± 1,8 µg/l la 6,85 ± 3,8 µg/l. Mai precis, cu excepţia unui sportiv la care renina nu s-a modificat, fenomenul de creştere a ARP după efort este prezent la toţi subiecţii testaţi (tabelul 1.7.).

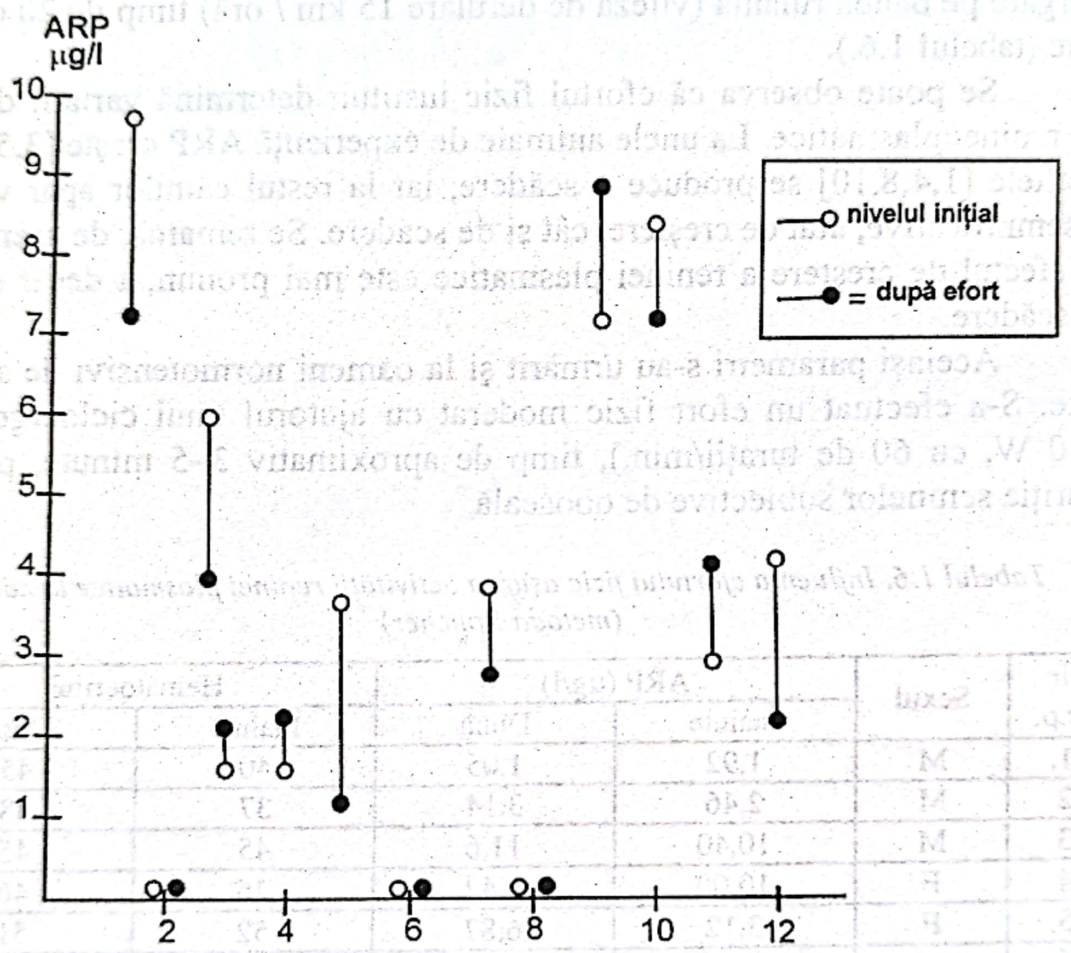


Figura 1.7. Nivelul activităţii reninei plasmatice la oameni normotensivi în repaus şi după efort fizic.

Pentru a obţine unele indicaţii asupra mecanismului prin care efortul fizic maximal, în condiţiile subiectului antrenat, determină creşterea activităţii reninei plasmatice, s-a urmărit acest parametru pe parcursul a 6 săptămâni de antrenare a câinilor prin alergare pe bandă rulantă (tabelul 1.8.). Efortul fizic instituit a fost gradat pentru o viteză de derulare de 15 km/oră. În prima săptămână s-a alergat timp de 20 de minute, apoi timpul a crescut treptat câte 5 minute după fiecare săptămână de antrenament.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1.7. Influenţa efortului fizic asupra ARP la subiecţi normali antrenaţi (metoda Boucher)

Nr.	Nume şi prenume	ARP (µg/l)		Puls		Tensiune arterială mm Hg		Nr. resp.		Angiotensinaza (consum de Ang II %)	
		Î	D	Î	D	Î	D	Î	D	Î	D
1	M.M.	3,47	3,88	60	180	115/70	170/90	16	28	24	30
2	L.M.	4,21	8,33	68	172	115/80	170/70	16	30	15	9
3	I.G.	7,61	8,33	70	180	130/75	190/70	17	28	38	18
4	Z.D.	4,88	4,88	68	180	115/60	150/65	18	32	0	22
5	B.M.	3,23	4,23	80	168	140/70	190/80	16	28	63	41
6	B.G.	6,66	14,28	68	172	125/65	190/50	16	26	25	0
7	C.C.	2,73	4,07	60	168	120/80	170/60	20	30	18	27
Media		4,68 ± 1,80									
		6,85 ± 3,80									

Tabel 1.8. ARP în cursul antrenamentului înainte şi după efort (media a opt câini)

Săptămâna	Valori medii ARP (µg/l/3h)	
	I.E.	D.E.
I	6,77 ± 1,72	8,86 ± 2,48
II	4,87 ± 1,85	5,21 ± 1,91
III	5,87 ± 2,10	7,19 ± 2,85
IV	4,22 ± 1,63	4,49 ± 1,83
V	4,33 ± 1,20	4,50 ± 1,60
VI	3,61 ± 1,04	4,32 ± 1,65
Media	4,94 ± 1,59	5,76 ± 3,16

Antrenamentul câinilor s-a realizat zilnic, iar probele de sânge pentru determinări s-au recoltat la începutul fiecărei săptămâni de antrenament. Concomitent cu evaluarea ARP s-au dozat şi angiotensinaza şi ionii de sodiu şi potasiu din plasmă. De asemenea, s-a urmărit presiunea arterială, pulsul şi frecvenţa mişcărilor respiratorii. Determinarea presiunii arteriale s-a făcut prin metoda indirectă la nivelul carotidei comune, tunelizată cu câteva săptămâni în prealabil.

Activitatea reninei plasmatice creşte după efortul fizic la toate animalele supuse antrenamentului, însă nivelul de fond al acestui parametru se reduce treptat pe măsura susţinerii efortului fizic de antrenare (tabelul 1.9.). Acest fapt de observaţie ar putea avea implicaţii terapeutice deosebite cunoscut fiind rolul culturii fizice medicale la hipertensivi ca mijloc de reducere treptată a activităţii sistemului renină-angiotensină.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1.9. Variațiile ARP, angiotensinazei și ionilor de Na și K din plasmă în cursul antrenamentului fizic (câinele 7 și 8)

Data experienței		ARP (µg/l)		Angiotensinaza (consum Ang II %)		Na (mEq/l)		K (mEq/l)	
		Î	D	Î	D	Î	D	Î	D
Câine 7	13.11.72	5,45	7,75	26,3	4,8	145	145	4,8	4,6
	20.11.72	1,50	12,75	33,4	19,2	146	148	5,7	5,0
	27.11.72	2,68	4,10	43,3	42,21	149,5	149,5	5,2	5,0
	4.12.72	9,66	10,50	33,4	0	146,5	148,0	7,5	6,65
	12.12.72	3,85	5,1	84,7	53,9	136	136	6,8	6,65
Câine 8	20.11.72	13,31	18,50	63,7	36,5	139	142	4,8	5,2
	27.11.72	4,20,01	3,50	20	23	149,5	149,5	6,3	6,5
	4.12.72	9,28	10,00	9,1	18,2	149,5	148,0	8,3	6,65
	12.12.72	4,20,01	3,50	71,0	50,0	144,0	142,0	7,5	7,3
	18.12.72	7,81	8,32	58,5	65,0	145,0	150,0	4,9	4,4
	25.12.72	9,3	10,5	74,0	59,7	148,0	145,0	4,4	4,65

Activitatea reninei plasmatice pe parcursul antrenamentului la unele animale de experiență prezintă anumite variații uneori cu totul particulare. În majoritatea cazurilor (după perioada de efort se observă o creștere a nivelului plasmatic al reninei la fiecare testare). Unele animale prezintă însă în săptămâna a treia sau a patra de antrenament o scădere a ARP (figurile 1.8. și 1.9.). Ceea ce rămâne constant atât în cazul studiului pe oameni, cât și la câinii antrenați este fenomenul de creștere a reninei circulante după efortul fizic.

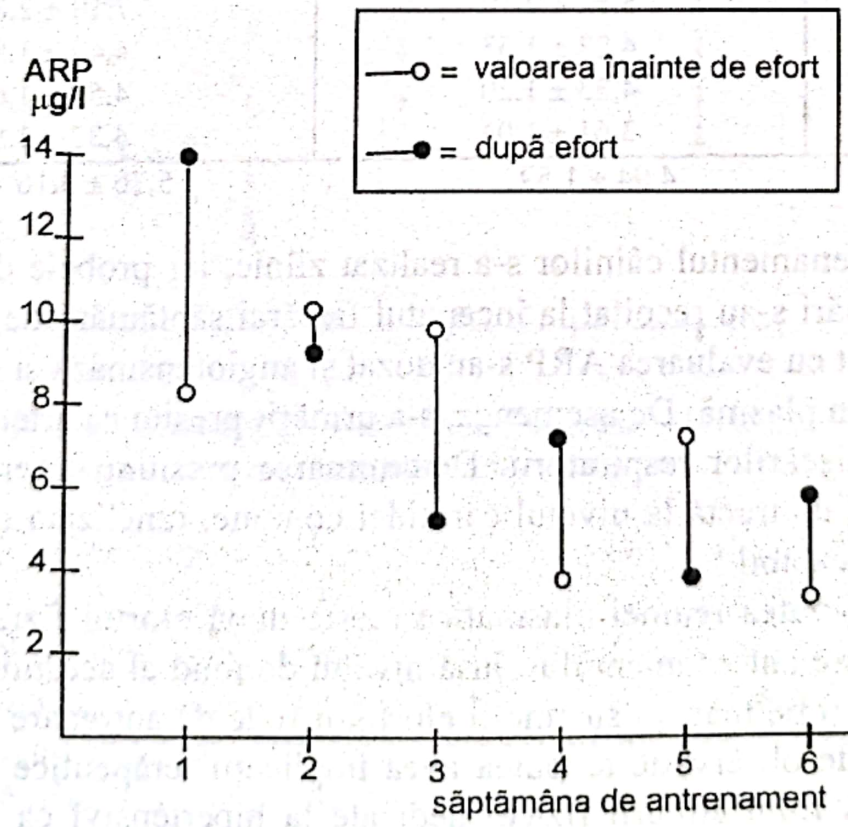


Figura 1.8. ARP în cursul antrenamentului înainte și după efort (câinele 4).

Scanned with OKEN Scanner

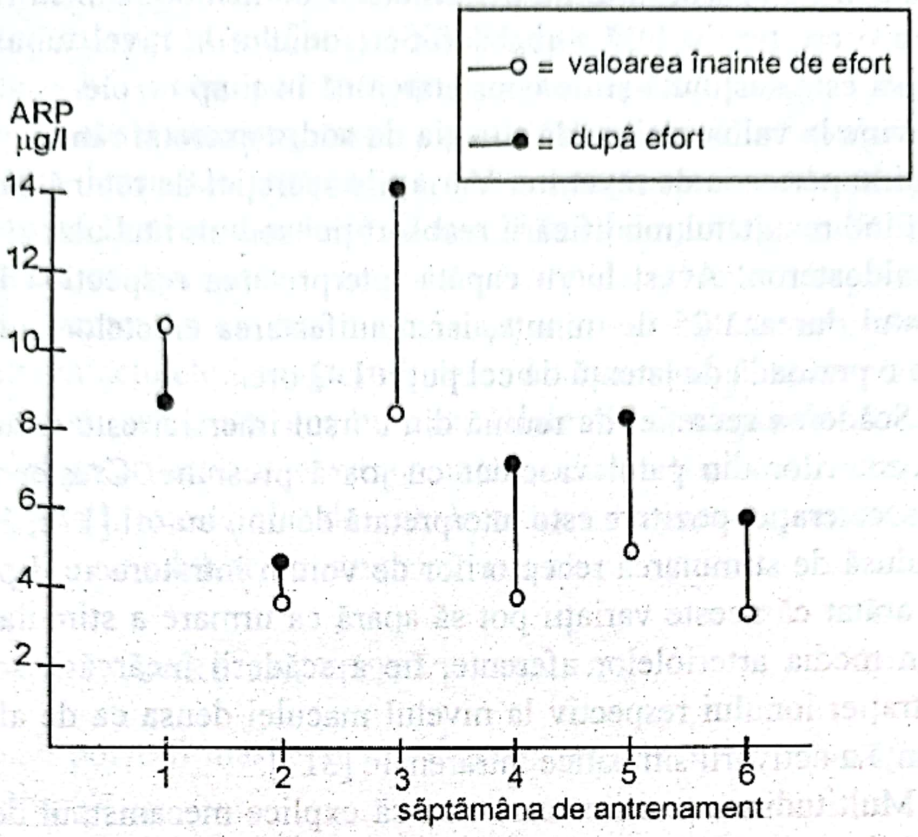


Figura 1.9. ARP în cursul antrenamentului, înainte şi după efort (câinele 6).

1.1.5.10. SECREŢIA DE RENINĂ ÎN CONDIŢIILE ACCELERAŢIEI POZITIVE

O imagine deosebită a interrelaţiilor diverşilor factori implicaţi în mecanismul de reglare a secreţiei de renină, în condiţiile organismului luat în totalitate, o prezintă efortul acceleraţiei pozitive.

S-a pornit de la constatarea că imersia organismului în apă (cu excepţia extremităţii cefalice) determină o reducere marcată a ARP concomitent cu apariţia unei natriureze semnificative [315, 316]. Aceste efecte au fost considerate ca fiind rezultatul modificării de volum al toracelui, urmate de creşterea volumului sanguin central şi a presiunii în atriul drept.

Centrifugarea radială pozitivă (acceleraţia pozitivă) determină, de asemenea, modificări semnificative ale distribuţiei volumului sanguin. Se produce astfel o creştere a presiunii în vasele din partea inferioară a inimii şi o scădere a ei în teritoriul suprajacent, proporţională cu greutatea coloanei de sânge dintre inimă şi locul de măsurare. În acest mod apare şi o reducere a cantităţii de sânge care se întoarce la inimă şi deci a debitului cardiac [313, 314].

Modificările de hemodinamică respective sunt însoţite de un efect antinatriuretic şi antidiuretic [317]. Paralel cu aceste perturbări, activitatea reninei plasmatice cunoaşte creşteri semnificative.

Scanned with OKEN Scanner

Antinatriureza apărută este în primul rând rezultatul scăderii cantității de ion filtrat apărut în urma perturbărilor de hemodinamică renală şi însoţite de o creştere indusă a reabsorbţiei sodiului la nivel tubular. Ipoteza respectivă este susţinută şi de constatarea că în timp ce clearance-ul creatininei revine la valoarea iniţială, fracţia de sodiu excretat rămâne la un nivel scăzut şi în perioada de revenire. Variaţiile secreţiei de renină sunt interpretate ca fiind rezultatul modificării reabsorbţiei sodiului tubular şi nu a secreţiei de aldosteron. Acest lucru capătă interpretarea respectivă întrucât experimentul durează 25 de minute, iar manifestarea efectelor aldosteronului reclamă o perioadă de latenţă de cel puţin 1–2 ore.

Scăderea secreţiei de renină din cursul imersiei este rezultatul excitării receptorilor din patul vascular cu joasă presiune. Creşterea ARP din timpul acceleraţiei pozitive este interpretată de unii autori [172, 315, 439] ca fiind indusă de stimularea receptorilor de volum intratoracic. Epstein şi colab. au arătat că aceste variaţii pot să apară ca urmare a stimulării receptorilor din media arteriolelor aferente, fie a scăderii încărcării sodate sau a concentraţiei ionului respectiv la nivelul maculei densa ca de altfel şi ca o consecinţă a activării simpatice intrarenale [317].

Multitudinea teoriilor care tind să explice mecanismul de control al secreţiei de renină ridică încă în faţa cercetătorilor din acest domeniu numeroase întrebări dintre care două prezintă importanţă majoră:

– sunt capabile aceste teorii, luate în parte, să explice observaţiile experimentale privind modificarea secreţiei de renină?

– este vreuna din ele favorizată sau exclusă din datele experimentale?

Din analiza datelor prezentate mai sus reiese pregnant dificultatea de a adera net în favoarea teoriei barorecepţiei sau a maculei densa, întrucât cele două zone nefronale participă la realizarea unităţii funcţionale. Astfel, scăderea presiunii din arteriola aferentă este întovărăşită de obicei de o reducere a încărcării cu sodiu a maculei densa, ca urmare a scăderii fluxului de filtrare glomerulară.

Aşadar, se poate afirma că în fenomenul de secreţie a reninei au rol atât receptorii situaţi în peretele vaselor renale, cât şi cei de la nivelul maculei densa. De asemenea, secreţia de renină este influenţată de diferiţi factori umorali (ionii de Na^+, K^+, catecolaminele) şi de mecanismele nervoase mediate prin nervii renali.

O interpretare plauzibilă a acestor date acumulate până în prezent atribuie ambilor receptori operativitate, însă activitatea dominantă a unuia sau a celuilalt variază în funcţie de anumite condiţii fiziologice sau pa-

Scanned with OKEN Scanner

tologice. Observațiile lui Blaine şi colab. asupra autonomiei funcționale a baroreceptorilor de la nivelul arteriolei aferente par să indice rolul fundamental al acestui mecanism [319, 320]. Studiile ulterioare vor trebui să definească semnalul precis perceput de receptorul vascular şi să determine variațiile funcționale ale compoziției sau fluxului lichidului tubular care activează macula densa. De asemenea, nu se cunoaşte care este legătura dintre receptorii situați la nivelul maculei densa şi celulele juxtaglomerulare. Juxtapoziția dintre celulele maculei densa şi celulele granulare sugerează posibilitatea existenței unui hormon local care ar fi eliberat de macula densa şi care ar difuza în celulele juxtaglomerulare, determinând eliberarea de renină [143]. Pe de altă parte, este posibil ca celulele JG să răspundă ca receptori vasculari, fără intervenția unei verigi intermediare. Nici rolul fiziologic al factorilor umorali nu este clar definit. În sfârşit, se pare că nervii renali au rol în procesul de modulare a secreției de renină.

1.1.6. EVALUAREA ACTIVITĂȚII RENINEI

Renina poate fi măsurată atât datorită proprietăților sale enzimatice, cât şi imunologice.

1.1.6.1. MĂSURAREA RENINEI ACTIVE

Renina activă rezultă prin activare enzimatică probabil a proreninei. Încă de la observațiile realizate de Tigerstedt şi Bergman s-a tras concluzia că administrarea intravenoasă a reninei produce creşterea presiunii arteriale. Acest efect a fost ulterior atribuit unor principii active (angiotensine) care rezultă din interacțiunea reninei cu un substrat de origine proteică (angiotensinogen). Efectul presor s-a observat a fi dependent de cantitatea de angiotensină formată. Goldblatt şi Hass au standardizat această metodă evaluând cantitatea de renină din probele biologice în „unități Goldblatt" (UG) stabilindu-i valoarea egală cu cantitatea de renină care administrată în circulația generală a unui câine produce creşterea presiunii arteriale cu 30 mm Hg [322]. Ulterior, s-a echivalat UG cu „unitatea internațională de renină" care corespunde la 60 pmol renină pură.

Aceste metode au evaluat în mod indirect activitatea reninei întrucât probele utilizate pentru măsurători apreciau abilitatea reninei de a forma angiotensină. În etapa actuală probele biologice de Ang sunt înlocuite cu metode radioimunologice de evaluare a Ang I [323].

Ca orice reacție enzimatică şi cea dintre renină şi angiotensinogen este funcție de mai mulți parametri, între care concentrația partenerilor, pH–ul şi temperatura mediului, timpul de interacțiune etc. prezintă o importanță deosebită.

Scanned with OKEN Scanner

În principiu, activitatea reninei se evaluează după incubarea timp de câteva ore a plasmei recoltate cu substratul reninic la 37° C. Se apreciază astfel rata de generare a angiotensinei formate. Întrucât, concentrația angiotensinogenului are o importanță deosebită în realizarea reacției enzimatice și cum aceasta variază în funcție de starea subiectului (sarcină, tratament cu estrogeni, afecțiuni hepatice, tratament cu inhibitori ai enzimei de conversie etc.), majoritatea laboratoarelor utilizează angiotensinogen exogen pentru evaluare. Deși s-a obținut angiotensinogen sintetic se preferă utilizarea angiotensinogenului obținut din plasma animalelor binefrectomizate [324] sau purificarea angiotensinogenului omolog [325].

Angiotensinogenul sintetic este clivat cu ușurință de către renină, dar din nefericire și de către tonină și catepsină D și de multe alte peptidaze [326, 327]. Pentru a se înlătura aceste situații se preferă realizarea unui pH de 7 în mediul de reacție și astfel activitatea catepsinei D este blocată întrucât aceasta necesită un pH acid de 4–5 [327, 328]. De altfel, pH–ul optim de interacțiune a reninei cu substratul său specific variază între 6–7.

Probleme deosebite au apărut în momentul în care s-a încercat să se evalueze activitatea reninei în diverse țesuturi, întrucât renina se găsește în cantitate mult mai mică (excepție rinichiul și glandele salivare submandibulare), iar raportul între renină și catepsina D este în favoarea acesteia din urmă. În aceste circumstanțe o parte din Ang I se formează independent de renină. Pentru corecție se lucrează în paralel și probe care se incubează cu antirenină specifică [329].

În timpul derulării reacției dintre renină și angiotensinogen o parte din Ang I formată este degradată de enzima de conversie și angiotensinaze. Pentru prevenirea acestor procese se utilizează fie inhibitori ai acestor proteaze, fie distrugerea lor chimică. O altă posibilitate este de reținere a Ang I pe măsură ce se formează de către anticorpi specifici [330].

Prevenirea activării angiotensinazelor a fost utilizată pentru prima dată de grupul condus de Brown [331], care a folosit pentru incubarea probelor angiotensinogen din plasma de bovine. Apoi s-au folosit rășine schimbătoare de ioni [332], acidifiere pentru distrugerea aminopeptidazelor [333, 334], consumul de angiotensinogen pentru evaluarea ratei de reacție a reninei [335] și inhibitori ai peptidazelor de tipul EDTA [336].

Utilizarea curentă, în clinică a acestor determinări, a fost posibilă datorită grupului condus de Haber, care a folosit metoda radioimunologică combinată cu inhibitori ai angiotensinazelor de tipul EDTA, 2,3–dimercapto-propanolului și 8–hidroxiquinolinei. EDTA inhibând și activitatea enzimei de conversie din plasmă dă posibilitatea unei evaluări corecte a ratei

Scanned with OKEN Scanner

de formare a Ang I întrucât prin această metodă Ang II nu poate fi recunoscută. Numeroase alte variante au fost imaginate respectând însă principiul de bază de control al activității angiotensinazelor și a enzimei de conversie [330, 337, 338, 339].

Reținerea Ang I de către anticorpii specifici este utilizată nu numai pentru protecția împotriva degradărilor enzimatice, ci și pentru măsurare.

Prima măsurare directă, radioimunologică a reninei a fost descrisă de Michelakis și colab. pentru renina din glandele submandibulare de șoarece [340]. Apoi ea a fost utilizată și pentru evaluarea ARP la animale de experiență [341, 342], iar Galen și colab. au descris și metoda utilizată pentru plasma umană [343]. Aceste metode au inclus folosirea de anticorpi monoclonali pentru creșterea sensibilității în vederea evaluării reninei la bolnavii hipertensivi cu activitatea reninei plasmatice scăzute. Higaki și colab. au folosit același principiu utilizând anticorpi policlonali [344, 345].

Anticorpii monoclonali preparați de câteva laboratoare sunt comercializați sub formă de kituri și dau posibilitatea standardizării metodei astfel încât rezultatele obținute în diversele servicii să fie comparabile.

1.1.6.2. MĂSURAREA PRORENINEI

La fel ca și renina activă, prorenina poate fi evaluată prin metode enzimatice, după activarea sa enzimatică, cât și direct–imunologic.

În trecut, majoritatea metodelor evaluau prorenina prin probe enzimatice în care aceasta era activată *in vitro* astfel încât să se poată aprecia renina totală, adică suma dintre renina preexistentă (renina activă) și prorenina astfel activată.

Activarea proreninei *in vivo* este greu de evaluat, în schimb *in vitro* aceasta este ușor de realizat. Tehnicile folosite constau fie în acidifiere, fie crioactivare sau incubare cu enzime proteolitice exogene.

Lumbers și colab. au folosit lichid amniotic și plasmă umană dializate la pH 3,3 timp de 24 de ore, urmată de o nouă dializă timp de 24 de ore la pH 7,5 [346].

Osmond și colab. au observat activarea proreninei după menținerea eșantioanelor câteva zile la temperatura de înghețare [347].

În ambele circumstanțe dacă temperatura, pH-ul și timpul sunt optime cantitatea de proreninâ activată este relativ identică [348]. Mecanismul incriminat atât în condiții de acidifiere, cât și prin crioactivare pare să fie de natură proteolitică prin acțiunea unor proteaze endogene cum ar fi kalikreina sau factori implicați în procesul de coagulare [348, 349, 350]. Efectele

Scanned with OKEN Scanner

acestor enzime asupra proreninei sunt facilitate de modificările conformaționale ale moleculei sau prin distrugerea sau inactivarea inhibitorilor endogeni ai proteazelor în cauză [348, 351].

Activarea proreninei de către enzimele proteolitice exogene este cea mai de dorit metodă pentru evaluarea proreninei. Din grupa acestor enzime se desprind patru clase (serin, aspartil, thiol și metaloenzime) capabile să limiteze proteoliza moleculei de prorenină prin care este detașat prosegmentul sau o parte din acest prosegment. Enzimele folosite pentru activarea proreninei sunt multiple: tripsina, pepsina, kalikreina plasmatică și urinară, plasmina, trombina, catepsinele D și B etc., dar cea mai frecvent utilizată este tripsina.

Desigur, și în aceste circumstanțe sunt reclamate condiții de temperatură și timp de incubare, dar mai ales cantitatea optimă de tripsină [352, 353] și adăugare de inhibitori de tripsină în incubat la sfârșitul reacției, după activarea proreninei de către tripsină.

Anumite probleme în tehnica de măsurare a proreninei din plasma de câine și șobolan au apărut în momentul în care s-a observat că însăși tripsina și chiar catepsina D pot scinda tetradecapeptidul în Ang I. Materialul decapeptid–like apărut în aceste circumstanțe poate realiza reacție încrucișată cu anticorpii anti Ang I folosiți în etapa radioimunologică a dozării.

Evaluarea cantității de prorenină din probele biologice prin metode enzimatice se obține prin diferența dintre cele două concentrații ale reninei măsurate (renina totală și cantitatea de renină activă preexistentă).

Măsurarea proreninei este dificilă și uneori chiar imposibilă dacă aceasta se găsește în concentrație redusă în comparație cu renina activă, așa cum se întâmplă în cazurile în care secreția de renină activă este stimulată intens. În aceste circumstanțe este indicată separarea de la început a reninei active de prorenină prin filtrare pe gel urmată de cromatografie pe coloană de Cibacrom agaroză, concanavalin A–sefaroză sau pepstatin–sefaroză. Nici una dintre metodele menționate nu a intrat în determinările curente întrucât sunt laborioase și costisitoare, de aceea s-a imaginat tehnica imunologică prin utilizarea anticorpilor antiprosegment.

Anticorpii monoclonali sunt utilizați pentru determinarea reninei totale și a reninei active, iar diferența dintre cele două măsurători reprezintă cantitatea de prorenină. Metoda este specifică și oferă date comparabile cu cele obținute prin utilizarea tripsinei în tehnica de utilizare a enzimelor proteolitice exogene [354, 355].

Elvin și colab. au fost primii care au sintetizat peptide similare prosegmentului de prorenina din glanda submandibulară de șoarece [356]. Apoi s-a sintetizat și prosegmentul pentru prorenina umană și anticorpii specifici acestora.

Scanned with OKEN Scanner

1.1.6.2.1. Semnificaţia proreninei în organismul sănătos şi în stări patologice

Prorenina plasmatică pare să fie rezultat atât al eliberării sale din rinichi, iar jumătate din concentraţia sa ca urmare a eliberării neregulate din surse extrarenale şi în mod predominant din microcirculaţie şi glanda suprarenală.

Implicaţiile sale în economia funcţională a organismului ar putea fi sustrase din observaţiile realizate după administrarea intravenoasă de preparate de prorenină. Ori, perfuzia intravenoasă a proreninei la primate, în cantitate care să producă creşterea de 100 de ori faţă de cea normală, nu a fost urmată nici de creşterea presiunii sanguine nici de acţiune vasoconstrictoare [357]. De altfel, o proporţie foarte mică (1 %) din prorenina plasmatică poate deveni eventual activă.

Şobolanii transgenici (Ren–2) dezvoltă o hipertensiune fulminantă caracterizată printr-o concentraţie foarte ridicată de prorenină şi scăzută de renină activă atât în plasmă, cât şi în rinichi [358].

În urma acestor observaţii s-a sugerat că locul de producere şi concentraţia sa tisulară determină activitatea enzimatică funcţională a proreninei. Conform acestei interpretări, prorenina ar acţiona paracrin (figura 1.10.). În acest concept, prorenina s-ar comporta în mod diferit la nivelul membranei celulare şi în mediul din imediata apropiere a locului de secreţie faţă de fluidele organismului şi în special plasma sanguină.

Astfel, prorenina poate fi endocitată şi activată intracelular prin procese de proteoliză sau mai posibil segmentul catalitic al proreninei ar putea fi influenţat de lipidele membranare sau de receptori specifici [359, 360].

Concentraţia plasmatică a proreninei este evaluată la 200 µUI/ml. În mod obişnuit se activează 1 % din această cantitate reprezentând 10 % din activitatea reninei plasmatice la adultul tânăr, 25 % la persoanele în vârstă şi 100 % la anefrici.

Prorenina nu poate ajunge în torentul circulator din toate ţesuturile care o sintetizează. Ea este prezentă în vezicule juvenile şi nu în granulele mature din celulele juxtaglomerulare.

Microcirculaţia reprezintă, probabil, una din sursele cele mai importante de prorenină întrucât există o corelaţie strânsă între nivelul de creştere al proreninei plasmatice şi gradul microangiopatiei diabetice [361, 362]. De asemenea, nivelul proreninei plasmatice se află în strânsă legătură cu angiogeneza ciclică ovariană ceea ce demonstrează că probabil întregul pat al microcirculaţiei eliberează spontan sau evocat anumite cantităţi de prorenină. În acelaşi sens se înscriu şi datele care pun în evidenţă prorenina în culturile de celule musculare netede umane şi respectiv arteriolele din anumite tumori [363, 364].

Scanned with OKEN Scanner

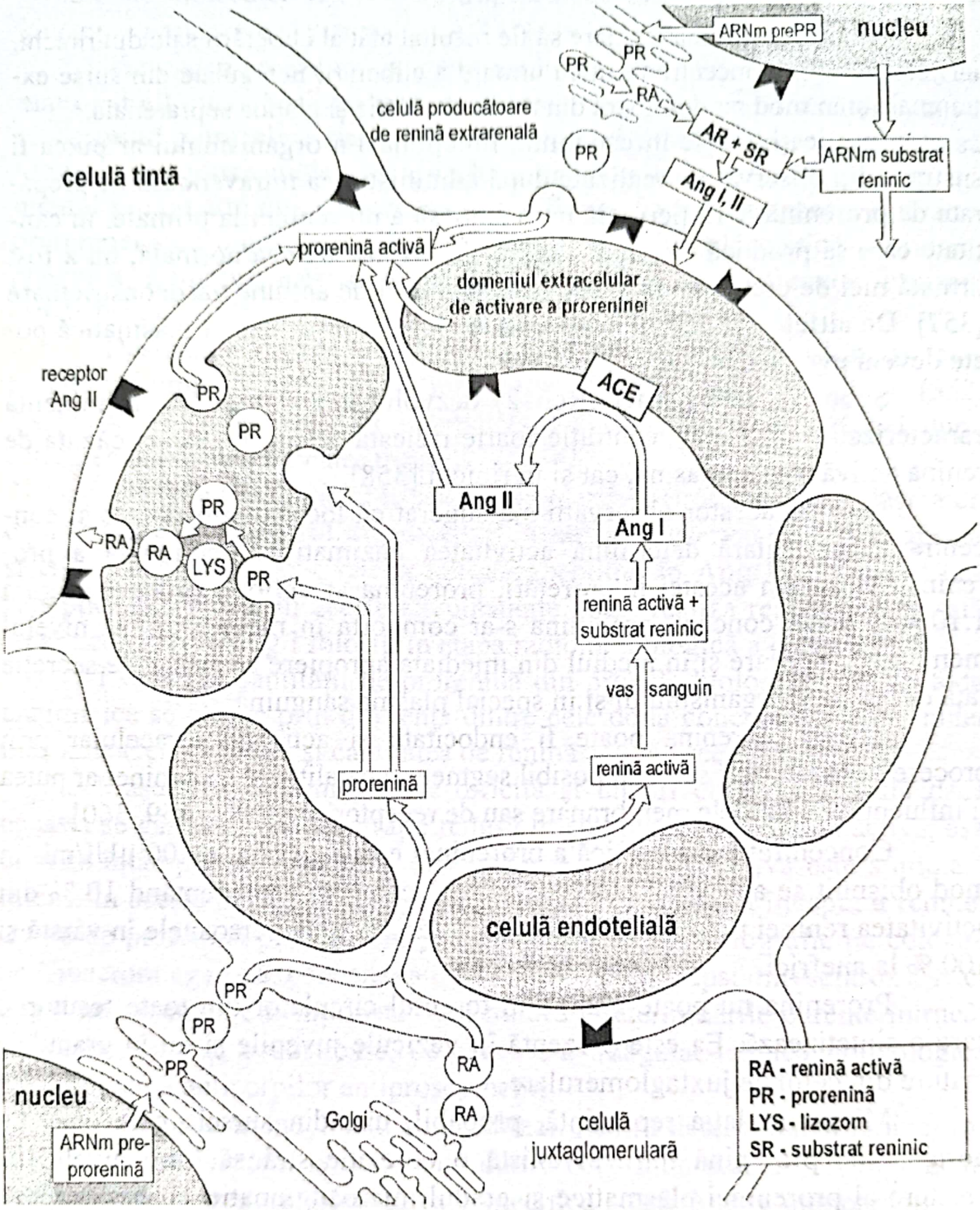


Figura 1.10. Interacţiuni posibile între sistemul renină-angiotensină renal şi cel extrarenal [68].

Prorenina a fost identificată şi în granulele secretorii deciduale, în glandele suprarenale, hipofiză şi testicul unde îndeplineşte roluri paracrine, iar secreţia sa este controlată de factorii topici locali [365, 366, 367,368].

Scanned with OKEN Scanner

Urmărindu-se secreția de renină în condiții fiziologice nu s-au observat modificări ale nivelului plasmatic al proreninei. De asemenea, s-a constatat că în condițiile creșterii foarte intense a secreției de renină se înregistrează pentru o scurtă perioadă de timp scăderea proreninei plasmatice pentru ca ulterior să se instaleze creșteri modeste susținute.

Acest fenomen bifazic a fost explicat în felul următor: proproteina sintetizată în exces ar putea urma două căi:

- trecerea ei în granule de stocaj sub formă de renină activă în urma unor procese de activare ireversibilă; formă care se va elibera în funcție de necesități;
- secreția urmelor de prorenină care nu mai este necesară pentru procesul declanşat în acest timp;

Cercetări realizate în culturi de celule juxtaglomerulare au arătat că prorenina rămâne intactă până când părăseşte sistemul golgian şi apoi urmează cele două căi. Calea formării de granule cuprinde condensarea veziculelor Golgi în protogranule, granule intermediare şi apoi granule mature în care prorenina este activată în totalitate sub acțiunea enzimelor lizozomale (cistein proteinaze, catepsina B etc.). În acelaşi timp microveziculele Golgi traversează membrana celulară fiind descărcate în lichidul interstițial sub formă de prorenină (figura 1.11.).

Incapacitatea de a se recunoaşte un stimul fiziologic care să intervină în controlul secreției de prorenină din celulele juxtaglomerulare fără să se modifice concomitent şi cantitatea de renină activă exocitată reprezintă un alt argument în favoarea unor mecanisme de control pur intracelulare care intervin în timpul sintezei până la secreția proreninei.

În ceea ce priveşte posibilitățile de control fiziologic al secreției de prorenină de origine extrarenală este cunoscut faptul că exceptând vasele de sânge şi tumorile la nivelul celorlalte surse acționează factori trofici.

Sinteza de prorenină la nivelul peretelui vascular este în mod normal inhibată de secreția renală de renină. La subiecți anefrici concentrația plasmatică a proreninei şi reninei se modifică semnificativ la variații mari ale nivelului plasmatic al Ang II, după administrare de Ang II sau după administrare de inhibitori ai enzimei de conversie [369, 370, 371]. În alte țesuturi s-a dezvoltat un mecanism de feedback în reglarea secreției, aşa cum se înregistrează la nivelul zonei glomerulare a corticosuprarenalei care prezintă o concentrație crescută de renină ca urmare a binefrectomiei la şobolani [372]. Se pare că şi aldosteronul ar interveni atât direct, cât şi în mod indirect în controlul secreției de prorenină atât la nivelul suprarenalei, cât şi microcirculației.

Scanned with OKEN Scanner

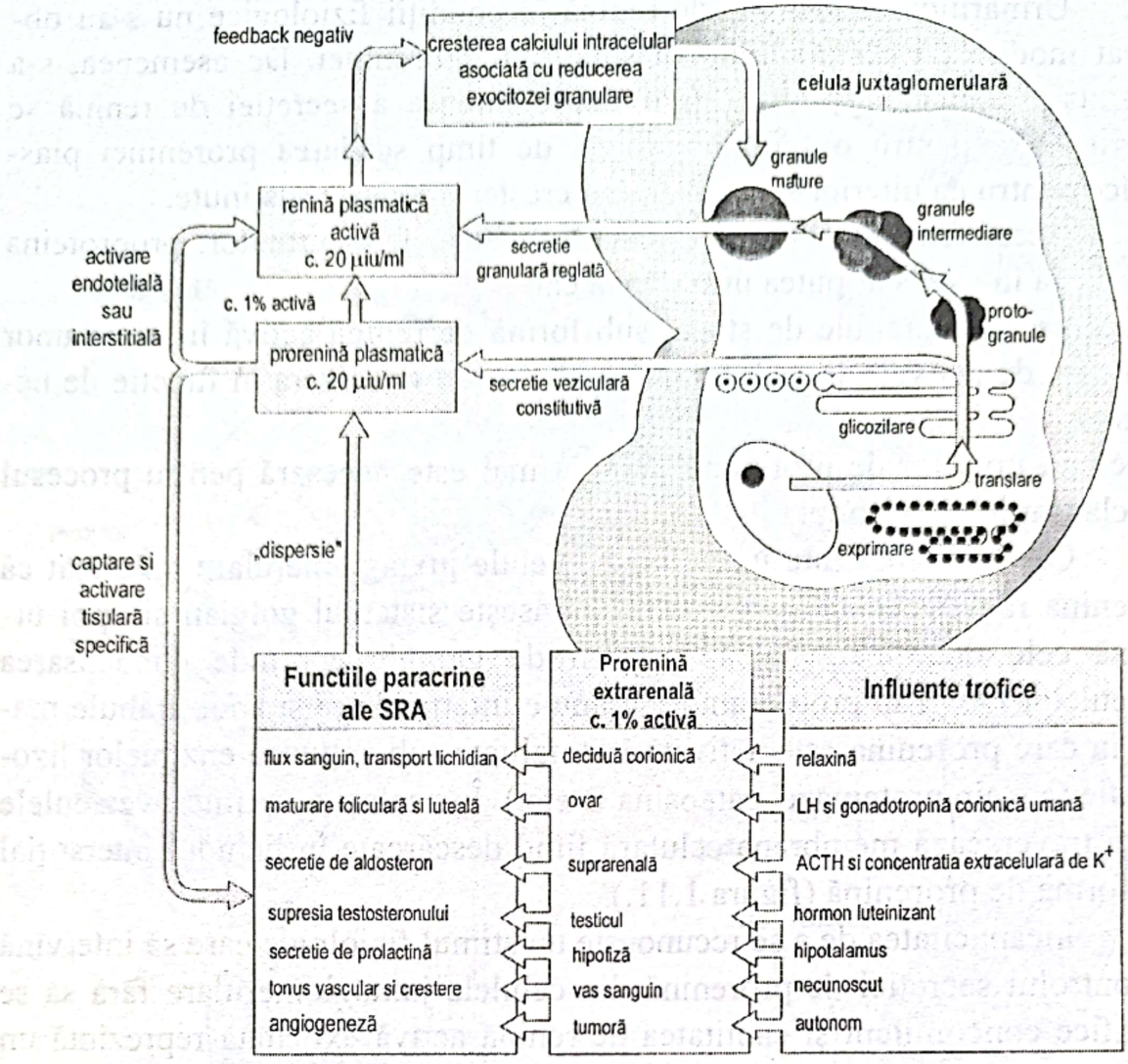


Figura 1.11. Origine, factori care controlează secreţia de prorenină şi rolurile sale posibile la nivel tisular [68].

1.1.6.2.2. Valoarea nivelului proreninei şi reninei totale plasmatice în diagnosticul unor maladii

Originea proreninei plasmatice nu poate fi stabilită în orice situaţie întrucât mai mult de 50 % din valoarea sa este de origine extrarenală (tractusul genital, suprarenală, microcirculaţie). Din aceste teritorii prorenina este eliberată într-o rată relativ constantă, secreţia constitutivă, dependentă de rata de sinteză. În condiţiile în care sursele de prorenină ar putea fi discriminate ele devin potenţiali markeri pentru stabilirea naturii perturbărilor înregistrate.

Astfel, creşterea proreninei plasmatice este indiciu al afectării microvasculare din diabetul zaharat [361, 362, 373, 374]. Creşterea nivelului proreninei plasmatice se însoţeşte de scăderea concentraţiei reninei active din plasmă şi a fost interpretată ca un defect progresiv al procesării reninei în celulele juxtaglomerulare [375] sau ca o disfuncţie autonomă [376]. Cea

Scanned with OKEN Scanner

mai mare parte a proreninei din această circumstanță are origine dispersată în microcirculație și ea ar realiza efectul de scădere a reninei active din plasmă ca urmare a declanșării mecanismului de feedback asupra rinichiului. Un astfel de tablou „prorenină crescută-renină activă scăzută" se întâlnește la șobolani transgenici cu hipertensiune arterială [358]. Absența fenomenelor hipertensive în diabetul zaharat însoțit de microangiopatie este interpretată în lumina datelor experimentale în care perfuzia cu prorenină nu este însoțită de efecte presoare [357].

Evaluarea nivelului proreninei plasmatice are valoare discriminativă în unele forme de hipertensiune cu nivel reninic scăzut așa cum se întâmplă în sindromul Conn în care atât renina totală plasmatică, cât și prorenina sunt mai scăzute chiar și în comparație cu subiecți anefrici.

De asemenea, există corelații între cantitatea totală de renină din lichidul foliculului ovarian și șansa de succes a fertilizării *in vitro*. În sarcina ectopică tubară se înregistrează corelații cu variațiile activității reninei active plasmatice întrucât prorenina nu suferă variații semnificative.

Nivelul reninei plasmatice totale reprezintă un indicator foarte exact în prezența unor tumori secretoare de renină. Prorenina sintetizată în aceste circumstanțe scapă în circulație în cantități care depășesc cu mult măsurătorile din oricare altă situație fiziologică sau patologică, în timp ce renina activă nu se află în exces.

Rezultă deci că în plasma sanguină normală a omului, prorenina este de sursă diferită și că doar 1 % din aceasta este transformată în renină activă. Prorenina de origine renală este rezultat al sintezei sale abundente ce scapă procesării pe calea formării de granule secretoare, astfel încât ea este eliberată de la nivelul aparatului Golgi cu o rată controlată în special de transcripție. În ciuda faptului că injectarea de prorenină nu produce creșterea presiunii sanguine, creșterea expresiei genice în țesuturile extrarenale, urmată de ridicarea nivelului plasmatic al proreninei constituie probabil cauza statusului hipertensiv ce se instaurează. De asemenea, evaluarea proreninei plasmatice poate fi de folos în managementul unor stări patologice.

1.1.7. INHIBITORI AI RENINEI

Posibilitățile reduse de transformare în plasmă a proreninei în renină activă sunt rezultatul existenței în acest mediu a unor inhibitori ai protein proteazelor [377, 378]. Aceștia intervin cu promptitudine blocând activitatea celor mai multe proteaze ce pot fi activate sau eliberate în plasmă.

Numeroase încercări au căutat să demonstreze existența acestor inhibitori endogeni atât în plasmă, cât și la nivelul țesuturilor [379]. Astfel, Bumpus și colab. [380, 381] au descris în rinichi o lizofosfatidă care ar inhiba renina, dar a cărei semnificație fiziologică nu a putut fi clarificată.

Scanned with OKEN Scanner

Alți cercetători au căutat în cadrul elementelor SRA potențiali inhibitori ai reninei și în acest context s-a presupus că des-Ang I angiotensinogenul ar realiza astfel de efecte [382]. Secvența primară a acizilor aminați din molecula angiotensinogenului este apropiată de a α_1–antitripsinei, antitrombinei III și ovalbuminei, substanțe care aparțin genetic familiei de inhibitori proteazici [383, 384]. Într-adevăr, angiotensinogenul ar putea fi un inhibitor proteazic pentru renină în contextul în care el este considerat inhibitor pentru aspartil–și serin proteaze [385]. Este posibil ca efectul inhibitor să-l realizeze Ang I formată în urma reacției dintre renină și substratul său.

Problema inhibitorilor reninei a căpătat un scop după introducerea în tratamentul unor forme de hipertensiune arterială a unor medicamente care interceptează una sau mai multe verigi din lanțul reacțiilor enzimatice ale sistemului renină–angiotensină (tabelul 1.10.).

Se observă că cele mai accesibile situsuri pentru intervenția selectivă a inhibitorilor sunt cantonate la nivelul receptorilor angiotensinergici și a activității enzimatice a reninei.

Tabel 1.10. Posibilități de blocare a activității sistemului renină-angiotensină [442]

Etapa	Agentul
Biosinteza reninei	Blocanți ai mesajului genetic (nedescoperiți)
Secreția reninei	Blocanții β-adrenergici (nespecifici)
Maturarea reninei	Inhibitorii enzimei de procesare a proreninei (nedescoperiți)
Activitatea reninei	Anticorpi Inhibitori peptidici și peptidici mimetici ai reninei
ACE	Captopril, enalapril, lisinopril
Receptorul Ang II	Saralazina și peptide similare Derivați imidazolinici

Primele încercări de a obține inhibitori reninici pe cale experimentală au vizat obținerea de anticorpi monoclonali [386, 387]. Apoi Skeggs și colab. au obținut un inhibitor cu greutate moleculară mică și care este un analog de octapeptid, dar a cărui activitate hipotensoare se materializa la doze foarte ridicate [388, 389].

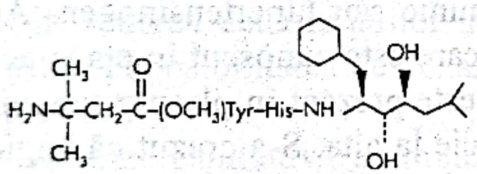
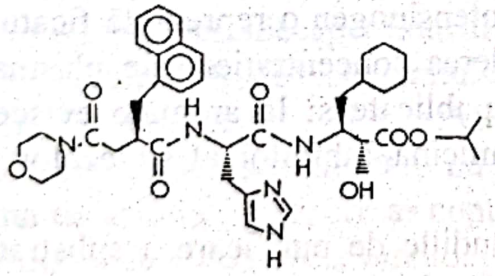
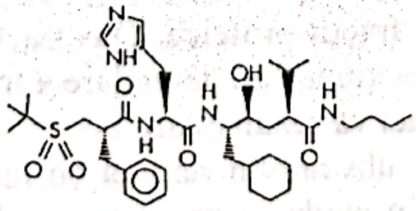
Inhibitori mai puternici au fost sintetizați prin substituirea variatelor reziduuri nehidrolizabile din lanțul moleculei. Pepstatinul, un inhibitor potent al pepsinei, are efecte de inhibiție nespecifică și asupra reninei. Pentru a-i crește selectivitatea de acțiune s-au sintetizat derivați prin substituirea statinului din molecula sa [390, 391, 392, 393]. Această clasă de analogi de substrat s–a dovedit a fi activi la concentrații de ordinul nanomolar. Alte modificări au avut ca obiectiv înlăturarea posibilităților de hidroliză reninică. Aceste substituții au dus la obținerea unor analogi de substrat a căror activitate este în funcție de reziduul aminoacidic din partea opusă locusului de substituire.

Scanned with OKEN Scanner

Modificări realizate la capătul carbonil, cât şi amino în structura analogilor de substrat cresc potenţa inhibitoare a acestor molecule peptid–like. Dintre acestea unii au arătat activitatea intensă, cât şi o durată lungă de activitate (tabelul 1.11.).

Unul din avantajele care ar pleda în favoarea utilizării inhibitorilor reninici este puterea de pătrundere intracelulară astfel încât să se blocheze atât renina tisulară, cât şi cea plasmatică. Anticorpii specifici antirenină produc o inhibiţie selectivă a reninei, dar numai din plasmă întrucât ei nu pot străbate membrana celulară. Peptidele renin–inhibitoare produc scăderea presiunii sanguine comparabil cu inhibitorii enzimei de conversie însă în paralel realizează şi scăderea activităţii reninei plasmatice şi concentraţiei plasmatice a Ang II. Această inhibiţie a reninei endogene declanşează mecanismul de feedback care va produce creşterea ulterioară atât a reninei totale, cât şi a reninei active [394].

Tabelul.1.11. Inhibitori reninici de lungă durată [442]

Structura	*Nume*	*In vitro* IC_{50} (nM)	Calea de administrare
	A– 64662 enalkiren	14	intravenos
	KRI-1314	4.7	oral
	CGP3856	0.7	oral

Scanned with OKEN Scanner

Deşi interceptarea activării SRA atât cu inhibitori ai enzimei de conversie, cât şi cu inhibitorii reninei realizează modificări comparabile asupra presiunii sanguine sistemice, există numeroase diferenţe în ceea ce priveşte răspunsul hemodinamic la nivelul diverselor organe. Astfel, în timp ce la nivelul rinichiului, inhibitorii enzimei de conversie produc o creştere a fluxului plasmatic renal şi rata filtrării glomerulare, inhibitorii reninici nu au nici un efect [395]. De asemenea, cele două clase de inhibitori ai activării SRA au efecte diferite şi asupra excreţiei de sodiu [396].

În etapa actuală este însă dificil să se facă diferenţe între efectele hemodinamice generale (sistemice) faţă de cele locale întrucât este greu să se stabilească cuantumul de participare a inhibării kininelor biologic active şi a eliberării de eicosanoizi la reglarea tonusului vasomotor.

1.2. ANGIOTENSINOGENUL–SUBSTRATUL RENINEI

Renina, factorul vasoconstrictor identificat de Tigerstedt şi Bergman în extractele de rinichi, îşi exercită acţiunile sale în mod indirect, deoarece s-a observat că principii biologic active apar ca rezultat al iniţierii unei cascade de reacţii enzimatice declanşate de acţiunea reninei asupra unui substrat specific denumit iniţial activator reninic sau hipertensinogen. Acesta este un complex macromolecular proteic care este cunoscut în etapa actuală sub numele de „angiotensinogen" şi care este prezent în plasma sanguină şi limfă în concentraţii variabile de la o specie la alta. S-a crezut că angiotensinogenul este sintetizat doar la nivelul ficatului pentru ca ulterior să se evidenţieze posibilităţi de sinteză şi în alte ţesuturi, oferindu-se astfel enzimei degradante (renina) în vederea formării de angiotensine biologic active.

Sursa cea mai importantă de angiotensinogen o reprezintă ficatul întrucât hepatectomia este urmată de scăderea concentraţiei sale plasmatice [397]. Observaţii asemănătoare au fost publicate şi la animale eviscerate [398] şi după perfuzia ficatului cu puromicină–inhibitor al sintezelor proteice [399].

Pentl şi colab. [400] au iniţiat studiile de purificare a substratului reninei, obţinând prin fracţionare cu sulfat de amoniu un amestec proteic bogat în alfa globuline, iar Green şi Bumpus [401] au reuşit prin denaturare acidă să izoleze α_2 globulinele de celelalte fracţii proteice. Din fracţia α_2–globulinică astfel obţinută se eliberează sub acţiunea de degradare a tripsinei tetradecapeptidul din care sub acţiunea reninei va rezulta Ang I.

Eforturile de izolare şi purificare a substratului reninei cu mijloace tehnice din ce în ce mai avansate au scos în evidenţă noi aspecte ale proprietăţilor sale fizico-chimice.

Scanned with OKEN Scanner

Separări cromatografice repetate pe coloană de DEAE-celuloză a produsului rezultat din fracționarea cu sulfat de amoniu și denaturarea acidă a impurităților din plasma de porc au condus la izolarea unei forme majore de substrat reninic, „forma A" și a două forme minore „B" și „C" [402]. Greutatea moleculară a acestora, determinată prin ultracentrifugare, variază între 55 000 și 60 000 Da. Din punct de vedere chimic, fracțiile A, C_1 și C_2 sunt glicoproteine cu compoziție predominant aminoacidică aproape identică. Diferențele constau în conținutul de glucosamină, acid sialic și hexoză neutră. Toate formele izolate îndeplinesc rol de substrat pentru renină însă la concentrații diferite [403].

Substratul reninic uman a fost purificat de Rosenthal și colab. printr-un procedeu în trei trepte [404]. După fracționarea cu sulfat de amoniu, precipitatul a fost trecut pe o coloană de Sephadex G–75, iar fracția cea mai bogată s-a folosit în continuare pentru separare electroforetică.

Purificarea și caracterizarea chimică a angiotensinogenului au precizat că există diferențe de specie în structura tetradecapeptidului, a segmentului N–terminal din molecula glicoproteinei respective [405, 406, 407, 408]. Acest fapt a condus la înțelegerea specificității de specie a reacției dintre renină și substratul său specific și în același timp a deschis perspective pentru sinteza și testarea biologică a inhibitorilor de renină. Ca urmare a progreselor respective s-a trecut la sinteza anticorpilor policlonali și monoclonali în vederea determinărilor imunologice ale angiotensinogenului. S-a ajuns astfel la posibilitatea de dozare precisă a angiotensinogenului și în diverse țesuturi.

Analiza cantitativă a aminoacizilor, dublată de studiul secvenței în lanțul polipeptidic a permis realizarea sintezei substratului reninic și odată cu aceasta aprofundarea kineticii procesului de formare a angiotensinei. S-a precizat printre altele că renina acționează hidrolitic asupra legăturii leucil–leucil din lanțul tetradecapeptidic al substratului.

Susceptibilitatea substratului față de renină depinde de numeroși factori și în primul rând de specie. Tipic este exemplul substratului reninic din plasma de șoarece alb care nu reacționează decât cu renina omoloagă. Plasma de șobolan și iepure ar conține două forme de substrat, cu sensibilitate diferită față de renina omoloagă și heteroloagă. Aproximativ 40 % din substrat este sensibil la renina omoloagă, iar restul de 60 % interacționează cu renina heteroloagă.

Variațiile de temperatură influențează, de asemenea, intensitatea reacțiilor care au loc între renină și substratul său specific, în mod diferit de la o specie la alta. Astfel, prin creșterea temperaturii de la 2° C la 37° C, activitatea reninei asupra substratului crește la om de 700 de ori, în timp ce la pisică numai de 90 de ori [409].

Scanned with OKEN Scanner

Studiile întreprinse în vederea elucidării proceselor de participare a SRA în activitatea organismului au precizat că în reglarea activării SRA, cel puțin pe termen scurt angiotensinogenul nu este implicat. Spre exemplu, adaptările organismului în cursul modificărilor de ingestie a sodiului se caracterizează printr-o modificare imediată a secreției de renină de către celulele juxtaglomerulare renale, în timp ce concentrația plasmatică a angiotensinogenului nu prezintă modificări.

Angiotensinogenul realizează un adevărat rezervor de substrat pentru renina atât din plasmă cât și din lichidul extracelular, cum ar fi spre exemplu lichidul cefalorahidian [410, 411, 412].

În aceste condiții a apărut întrebarea dacă angiotensinogenul trebuie să se afle în exces pentru a putea fi clivat de renină. Cele mai multe observații au răspuns la această întrebare arătând că această concentrație ridicată din plasma sanguină nu este rezultat al necesităților de a exista un exces de substrat întrucât la șobolanii și șoarecii în depleție sodată angiotensinogenul plasmatic se găsește în concentrație foarte coborâtă [413, 414]. Oricare ar fi situația (exces sau nu de angiotensinogen plasmatic) angiotensinogenul plasmatic reprezintă unul din participanții activi la controlul presiunii sanguine întrucât transferul pasiv de anticorpi angiotensinogen este urmat de scăderea presiunii arteriale și a activității reninei plasmatice [415].

Dacă se admite că rata de formare a Ang I este maximum jumătate din concentrația uzuală a angiotensinogenului plasmatic este logic de interpretat că ridicarea nivelului angiotensinogenului plasmatic indusă de administrarea de estrogeni sau glucocorticoizi ar avea rol în fiziopatologia hipertensiunii arteriale secundare ca urmare a utilizării contraceptivelor sau din sindromul Cushing [416]. Dar, cele mai importante modificări apărute ca urmare a creșterii concentrației angiotensinogenului plasmatic secundar tratamentului cu estrogeni de sinteză, s-au observat la nivel de flux sanguin renal [417].

Nu s-a putut stabili însă o legătură între nivelul angiotensinogenului plasmatic și valoarea presiunii arteriale datorită mecanismului de feedback care se declanșează prin formarea de Ang II. Orice creștere a nivelului angiotensinogenului plasmatic dacă se însoțește și de creșterea Ang II este urmată de scăderea eliberării de renină contracarând creșterile angiotensinogenului în vederea restabilirii concentrației normale a Ang II plasmatice.

Sinteza și secreția de angiotensinogen sunt stimulate după administrare de glucocorticoizi, estrogeni, Ang II și hormoni tiroidieni [405, 418]. Procesul este mult mai lent (după ore sau chiar zile) față de modificările reninei plasmatice care apar la câteva secunde sau minute de la intervenția unui factor de control. Stimularea hormonal indusă a sintezei și secreției de angiotensinogen este preîntâmpinată sau neutralizată prin administrarea de antiglucocorticoizi sau antiestrogeni, în timp ce suprarenalectomia și tiroidectomia scad nivelul angiotensinogenului plasmatic.

Scanned with OKEN Scanner

Separări cromatografice repetate pe coloană de DEAE-celuloză a produsului rezultat din fracţionarea cu sulfat de amoniu şi denaturarea acidă a impurităţilor din plasma de porc au condus la izolarea unei forme majore de substrat reninic, „forma A" şi a două forme minore „B" şi „C" [402]. Greutatea moleculară a acestora, determinată prin ultracentrifugare, variază între 55 000 şi 60 000 Da. Din punct de vedere chimic, fracţiile A, C_1 şi C_2 sunt glicoproteine cu compoziţie predominant aminoacidică aproape identică. Diferenţele constau în conţinutul de glucosamină, acid sialic şi hexoză neutră. Toate formele izolate îndeplinesc rol de substrat pentru renină însă la concentraţii diferite [403].

Substratul reninic uman a fost purificat de Rosenthal şi colab. printr-un procedeu în trei trepte [404]. După fracţionarea cu sulfat de amoniu, precipitatul a fost trecut pe o coloană de Sephadex G–75, iar fracţia cea mai bogată s-a folosit în continuare pentru separare electroforetică.

Purificarea şi caracterizarea chimică a angiotensinogenului au precizat că există diferenţe de specie în structura tetradecapeptidului, a segmentului N–terminal din molecula glicoproteinei respective [405, 406, 407, 408]. Acest fapt a condus la înţelegerea specificităţii de specie a reacţiei dintre renină şi substratul său specific şi în acelaşi timp a deschis perspective pentru sinteza şi testarea biologică a inhibitorilor de renină. Ca urmare a progreselor respective s-a trecut la sinteza anticorpilor policlonali şi monoclonali în vederea determinărilor imunologice ale angiotensinogenului. S-a ajuns astfel la posibilitatea de dozare precisă a angiotensinogenului şi în diverse ţesuturi.

Analiza cantitativă a aminoacizilor, dublată de studiul secvenţei în lanţul polipeptidic a permis realizarea sintezei substratului reninic şi odată cu aceasta aprofundarea kineticii procesului de formare a angiotensinei. S-a precizat printre altele că renina acţionează hidrolitic asupra legăturii leucil–leucil din lanţul tetradecapeptidic al substratului.

Susceptibilitatea substratului faţă de renină depinde de numeroşi factori şi în primul rând de specie. Tipic este exemplul substratului reninic din plasma de şoarece alb care nu reacţionează decât cu renina omoloagă. Plasma de şobolan şi iepure ar conţine două forme de substrat, cu sensibilitate diferită faţă de renina omoloagă şi heteroloagă. Aproximativ 40 % din substrat este sensibil la renina omoloagă, iar restul de 60 % interacţionează cu renina heteroloagă.

Variaţiile de temperatură influenţează, de asemenea, intensitatea reacţiilor care au loc între renină şi substratul său specific, în mod diferit de la o specie la alta. Astfel, prin creşterea temperaturii de la 2° C la 37° C, activitatea reninei asupra substratului creşte la om de 700 de ori, în timp ce la pisică numai de 90 de ori [409].

Scanned with OKEN Scanner

Studiile întreprinse în vederea elucidării proceselor de participare a SRA în activitatea organismului au precizat că în reglarea activării SRA, cel puțin pe termen scurt angiotensinogenul nu este implicat. Spre exemplu, adaptările organismului în cursul modificărilor de ingestie a sodiului se caracterizează printr-o modificare imediată a secreției de renină de către celulele juxtaglomerulare renale, în timp ce concentrația plasmatică a angiotensinogenului nu prezintă modificări.

Angiotensinogenul realizează un adevărat rezervor de substrat pentru renina atât din plasmă cât și din lichidul extracelular, cum ar fi spre exemplu lichidul cefalorahidian [410, 411, 412].

În aceste condiții a apărut întrebarea dacă angiotensinogenul trebuie să se afle în exces pentru a putea fi clivat de renină. Cele mai multe observații au răspuns la această întrebare arătând că această concentrație ridicată din plasma sanguină nu este rezultat al necesităților de a exista un exces de substrat întrucât la șobolanii și șoarecii în depleție sodată angiotensinogenul plasmatic se găsește în concentrație foarte coborâtă [413, 414]. Oricare ar fi situația (exces sau nu de angiotensinogen plasmatic) angiotensinogenul plasmatic reprezintă unul din participanții activi la controlul presiunii sanguine întrucât transferul pasiv de anticorpi angiotensinogen este urmat de scăderea presiunii arteriale și a activității reninei plasmatice [415].

Dacă se admite că rata de formare a Ang I este maximum jumătate din concentrația uzuală a angiotensinogenului plasmatic este logic de interpretat că ridicarea nivelului angiotensinogenului plasmatic indusă de administrarea de estrogeni sau glucocorticoizi ar avea rol în fiziopatologia hipertensiunii arteriale secundare ca urmare a utilizării contraceptivelor sau din sindromul Cushing [416]. Dar, cele mai importante modificări apărute ca urmare a creșterii concentrației angiotensinogenului plasmatic secundar tratamentului cu estrogeni de sinteză, s-au observat la nivel de flux sanguin renal [417].

Nu s-a putut stabili însă o legătură între nivelul angiotensinogenului plasmatic și valoarea presiunii arteriale datorită mecanismului de feedback care se declanșează prin formarea de Ang II. Orice creștere a nivelului angiotensinogenului plasmatic dacă se însoțește și de creșterea Ang II este urmată de scăderea eliberării de renină contracarând creșterile angiotensinogenului în vederea restabilirii concentrației normale a Ang II plasmatice.

Sinteza și secreția de angiotensinogen sunt stimulate după administrare de glucocorticoizi, estrogeni, Ang II și hormoni tiroidieni [405, 418]. Procesul este mult mai lent (după ore sau chiar zile) față de modificările reninei plasmatice care apar la câteva secunde sau minute de la intervenția unui factor de control. Stimularea hormonal indusă a sintezei și secreției de angiotensinogen este preîntâmpinată sau neutralizată prin administrarea de antiglucocorticoizi sau antiestrogeni, în timp ce suprarenalectomia și tiroidectomia scad nivelul angiotensinogenului plasmatic.

Scanned with OKEN Scanner

Binefrectomia reprezintă o altă circumstanță care se însoțește de creșterea nivelului plasmatic al angiotensinogenului și de stimularea sintezei sale la nivel hepatic. Deși sinteza și secreția angiotensinogenului în circumstanțele menționate anterior sunt influențate pe căi diferite, mecanismul de producere este încă plin de necunoscute.

După introducerea tehnologiei genetice în studiul sistemului renină–angiotensină s-au detectat atât angiotensinogenul, cât și ARN-ul său mesager în diferite țesuturi, utilizându-se noțiunea de SRA local. S-a observat însă că sistemele renină-angiotensină din țesuturi diferă de SRA circulant cel puțin prin următoarele aspecte:

– Ang II se produce în țesutul în cauză și acționează autocrin sau paracrin;
– reglarea activității sale se realizează local și independent de sistemul circulant.

Studiile imunohistochimice au putut preciza originea predominant hepatică a angiotensinogenului numai după tratamentul cu colchicină întrucât acesta nu este stocat în hepatocite în timp ce hibridizarea *in situ* a dat posibilitatea detectării hepatice directe a acestuia [419] și localizarea intracelulară a ARNm în diferite țesuturi.

Astfel, localizarea angiotensinogenului la nivelul vaselor sanguine reprezintă domeniul de dezbatere pentru adepții prezenței sale în celulele musculare netede sau în țesutul adipos din adventice [420, 421, 422]. La nivelul rinichiului mARN pentru angiotensinogen a fost evidențiat doar în celulele tubulare proximale [423], deși Ang II a fost pusă în evidență imunohistochimic și în celulele juxtaglomerulare [424].

În anumite țesuturi ARN mesager pentru angiotensinogen este supus acțiunii reglatoare a numeroși factori. Dieta săracă în sodiu crește expresia mARN pentru angiotensinogen în miocitele din aortă și în celulele tubulare proximale, în timp ce la nivelul hepatocitelor și în țesutul gras periaortic nu se produc modificări [422, 423]. La nivelul creierului sursa cea mai importantă de angiotensinogen o reprezintă astrocitele [425]. Totuși, în nici o astfel de celulă capabilă să sintetizeze și să secrete angiotensinogen nu s-au pus în evidență granule secretorii, comparându-se procesul de secreție cu cel observat în cazul ACTH-ului [426].

ARN mesager pentru angiotensinogenul uman din hepatocite este reprezentat prin două specii în funcție de lungimea lanțului molecular: unul cu 2000 și altul cu 2200 de nucleotide. Studii făcute în acest sens în alte țesuturi nu au dat rezultate concludente.

Genele angiotensinogenului și ale reninei umane sunt localizate în aceeași regiune a cromozomului 1, în timp ce pentru angiotensinogenul de șobolan în cromozomul 19, iar la șoarece în cromozomul 8 [427, 428].

Scanned with OKEN Scanner

Structura genei pentru angiotensinogenul uman este aproape similară cu cea a α_1-antitripsinei şi α_1-antichimotripsinei în ceea ce priveşte numărul, dimensiunea şi locul de îmbinare al exonilor. De asemenea, şi gena pentru antitrombina III are asemănări cu genele menţionate anterior. Aceste asemănări în structură vin în favoarea ipotezei că familia genelor inhibitorilor serin–proteazelor au origine comună [429, 430].

Aceste studii genetice au permis realizarea transferului de la o specie la alta a genelor, realizându-se animale transgenice care au scos odată în plus în relief specificitatea de specie a sistemului renină-angiotensină.

Altă aplicaţie a tehnologiei genice a reprezentat-o utilizarea ARN antisens pentru scăderea producţiei de angiotensinogen în celulele de hepatom H411EC3, transformând clonal stabil liniile celulare ARN antisens pentru angiotensinogenul izolat [431]. Aceste cercetări au aplicabilitate clinică alături de alte metode folosite în terapeutică, de reducere sau chiar blocare a activităţii sistemului renină-angiotensină.

1.2.1. METABOLISMUL ANGIOTENSINOGENULUI

Angiotensinogenul poate urma două căi metabolice:
– sub acţiunea reninei să se transforme în des–Ang I angiotensinogen;
– metabolizare fără intervenţia reninei.

Ponderea unei căi metabolice sau a celeilalte este în funcţie de nivelul circulant al reninei.

Metabolizarea angiotensinogenului de către serin–proteaze conduce la generarea de Ang II (catepsina D, pepsina, enzime renin–like). O altă serie de proteaze, în afara reninei, sunt capabile să cliveze angiotensinogenul în Ang I (figura 1.12.).

În ceea ce priveşte posibilitatea de generare a Ang I şi Ang II, puţine enzime care acţionează asupra tetradecapeptidului sunt capabile să cliveze angiotensinogenul [432, 433].

Unele studii au urmărit metabolismul angiotensinogenului *in vivo* după administrarea în bolus a unei cantităţi de ^{125}I–angiotensinogen, urmărindu-se secvenţial prin monitorizare radioactivitatea plasmei. Curba rezultată în urma monitorizării prezintă două componente: una care are perioada de înjumătăţire între 50 şi 120 de minute, iar cea de a doua între 300 şi 800 de minute. Existenţa unor concentraţii similare a angiotensinogenului în limfă şi plasmă a scos în relief că angiotensinogenul are acces şi în lichidul interstiţial. Cele două componente ale curbei de monitorizare a radioactivităţii au fost interpretate ca reprezentând metabolizarea în plasmă (perioada de înjumătăţire 50–120 de minute) şi respectiv în lichidul interstiţial cu perioada de înjumătăţire de 300–800 de minute [434].

Scanned with OKEN Scanner

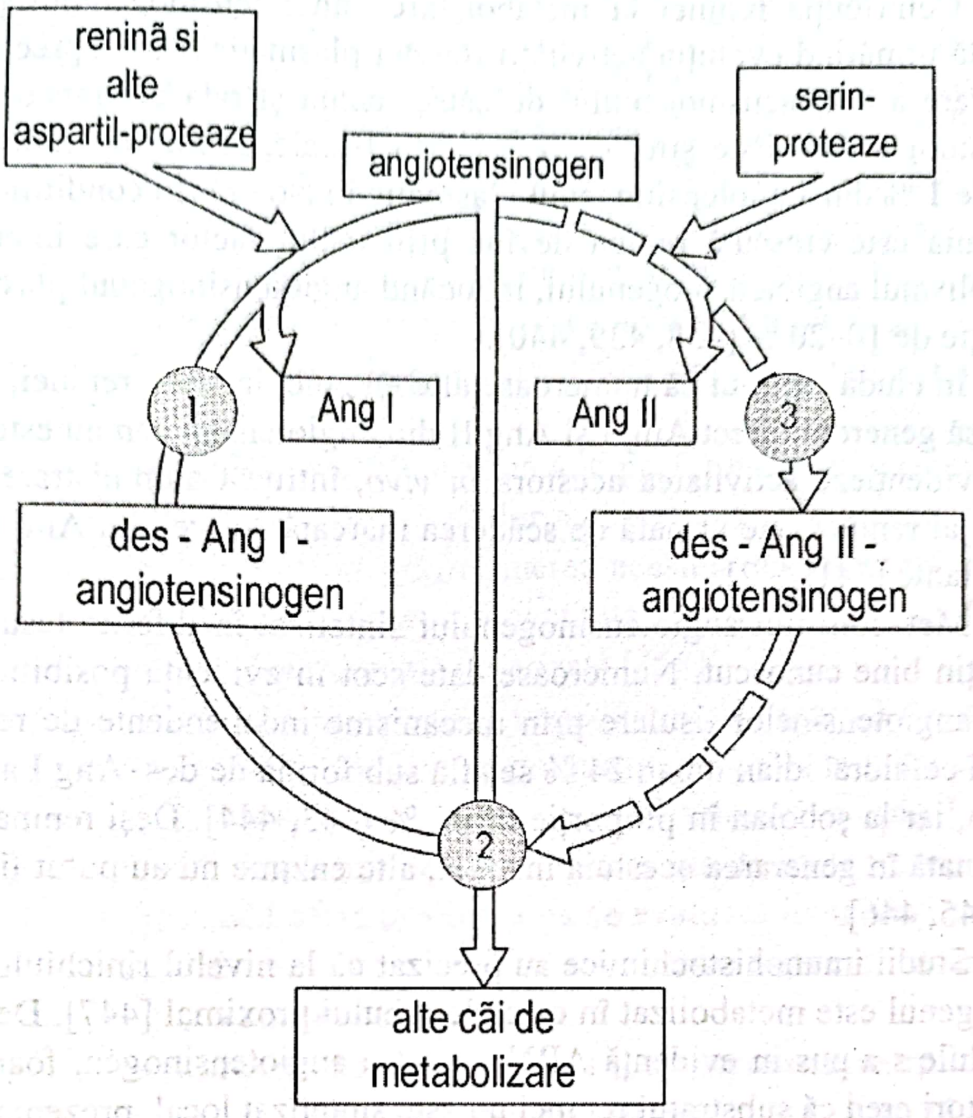


Figura 1.12. Căi de metabolizare a angiotensinogenului [504].

Lewicki şi colab. [435] şi Bouhnik şi colab. [436] au găsit că cinetica clearance-ului plasmatic al angiotensinogenului este similară cu a des–Ang I angiotensinogenului, în timp ce Hilgenfeldt [437] a constatat un clearance mai rapid pentru des–Ang I angiotensinogen. La şobolanii nefrectomizaţi, componenta a doua a curbei este mai lungă atât pentru angiotensinogen, cât şi pentru des–Ang I angiotensinogen ceea ce scoate în relief că rinichiul are o importanţă deosebită pentru clearance-ul ambelor proteine.

Studiindu-se separat clearance-ul atât al formei des–angiotensinogen cu greutate moleculară mare (Angen–1) cât şi al formei cu greutate moleculară mică (Angen–2) s-a ajuns la concluzia că Angen–2 are în structură doar o grupare hidrocarbonată, în timp ce Angen–1 are o perioadă de înjumătăţire mai îndelungată datorită glicozilării sale mai extinse [437].

Scanned with OKEN Scanner

Contribuția reninei la metabolizarea angiotensinogenului poate fi evaluată urmărind evoluția activității reninei plasmatice care apreciază rata de clivare a angiotensinogenului de către renină și rata clearance-ului angiotensinogenului. Este știut că în condiții bazale, renina degradează mai puțin de 1 % din angiotensinogenul plasmatic într-o oră. În condițiile în care reninemia este crescută renina devine principalul factor care intervine în metabolismul angiotensinogenului, reducând angiotensinogenul plasmatic în proporție de 10–20 % [438, 439, 440].

În ciuda faptului că numeroase alte enzime, în afara reninei, sunt capabile să genereze direct Ang I și Ang II din angiotensinogen nu este posibil să se evidențieze activitatea acestora *in vivo*, întrucât administrarea de inhibitori ai reninei este urmată de scăderea marcată a nivelului Ang I și Ang II circulante [441, 442].

Metabolismul angiotensinogenului sintetizat în diferite țesuturi este mai puțin bine cunoscut. Numeroase date scot în evidență posibilitatea generării angiotensinelor tisulare prin mecanisme independente de renină. În lichidul cefalorahidian uman 24 % se află sub formă de des–Ang I angiotensinogen, iar la șobolan în proporție de 31 % [443, 444]. Deși renina nu este incriminată în generarea acestuia în LCR, alte enzime nu au putut fi evidențiate [445, 446].

Studii imunohistochimice au precizat că la nivelul rinichiului angiotensinogenul este metabolizat în celulele tubului proximal [447]. Deși în aceste celule s-a pus în evidență ARNm pentru angiotensinogen, foarte mulți cercetători cred că substratul reninei nu este sintetizat local, prezența sa fiind rezultatul preluării de către aceste celule din ultrafiltrat [448].

1.2.2. METODE DE EVALUARE A ANGIOTENSINOGENULUI

Angiotensinogenul reprezentând unul din elementele componente de bază ale sistemului renină–angiotensină, prin variațiile concentrației sale plasmatice în diferite circumstanțe fiziologice și patologice a suscitat interes pentru evaluarea sa cantitativă.

În decursul timpului s-au imaginat diferite metode de măsurare a nivelului său plasmatic sau în diferite umori ale organismului, legate de evoluția tehnologiilor și a cunoștințelor în domeniul respectiv.

Una din primele metode a constat în incubarea probelor recoltate cu renină exogenă în exces în vederea transformării întregii cantități de angiotensinogen în Ang I sau Ang II [455, 456]. Una din criticile cele mai de luat în seamă semnala însă că durata lungă de incubare ar vicia rezultatul întrucât

Scanned with OKEN Scanner

angiotensinele formate ar fi degradate sub acţiunea angiotensinazelor. Pentru a se preîntâmpina această posibilitate de eroare, Tree a propus utilizarea inhibitorilor de angiotensinaze de tipul acidului etilendiaminotetraacetic (EDTA) şi a fenantrolinei [455]. După separarea plasmei prin centrifugare şi hidroliza completă a angiotensinogenului prin adăugare de renină umană, Ang I formată era evaluată prin metode cromatografice şi radioimunologice.

Bing şi Paulsen au conceput o metodă asemănătoare şi au apreciat cantitatea de angiotensină biologic, pentru ca apoi să utilizeze şi enzimă de conversie pentru formare de Ang II care a fost măsurată radioimunologic [456].

Paulsen şi Jorgensen au îmbunătăţit performanţele acestui tip de tehnică, apreciind cantitatea de Ang I formată ca urmare a incubării probei de cercetat cu renină în exces prin reţinerea acesteia de anticorpi specifici antiAng I [457], iar Gordon a apreciat cantitatea de Ang I formată folosind metoda imunologică în fluorescenţă polarizată [458].

Campillo şi colab. au descris o metodă cinetică simplă de măsurare atât a concentraţiei reninei, cât şi a angiotensinogenului din plasma umană [449]. În esenţă ea constă în estimarea radioimunologică a Ang I formată prin incubarea probei de plasmă la 37° C fără adiţie de renină timp de 2, 4, 6, 8 ore. Această metodă oferă posibilitatea de evaluare în aceeaşi probă biologică, fără adiţie de renină exogenă, a angiotensinogenului, a activităţii reninei plasmatice şi a concentraţiei reninei.

După purificarea angiotensinogenului şi obţinerea anticorpilor specifici s-au iniţiat metode de măsurare radioimunologică directă. Astfel, Eggeno şi colab. au purificat angiotensinogen din plasma de la subiecţi normali şi au preparat anticorpi specifici la iepure [450]. Rezultatele măsurătorilor radioimunologice directe au fost comparate cu cele obţinute în mod indirect prin utilizarea metodelor enzimatice şi s-a constatat o concordanţă perfectă între valorile obţinute. Totuşi, la persoanele supuse tratamentului cu estrogeni, la care nivelul angiotensinogenului este ridicat, metodele enzimatice oferă valori mult mai mari decât cele imunologice. De asemenea, la aceste persoane s-au evidenţiat trei forme de angiotensinogen circulant din care doar una singură prezintă reacţie încrucişată cu antiserul preparat folosindu-se substrat de la persoane normale. Deci, metodele enzimatice evaluează şi angiotensinogen care nu este recunoscut de antiserul specific.

Metodele radioimunologice oferă însă rezultate comparabile cu cele obţinute pe cale enzimatică nu numai în cazul subiecţilor normotensivi, ci şi al celor care prezintă hipertensiune arterială esenţială [450, 451].

Scanned with OKEN Scanner

Grupul condus de Sato a făcut studii comparative nu numai din punct de vedere a metodologiei utilizate, ci şi a probelor biologice studiate şi a găsit diferenţe între proprietăţile chimice şi imunologice ale angiotensinogenului din lichidul cefalorahidian faţă de cel plasmatic lansând ideea că angiotensinogenul din LCR nu este de origine periferică.

Cercetări întreprinse la bolnavi cu hipertensiune severă, cu dietă săracă în sodium, au pus în evidenţă valori net superioare prin evaluare radioimunologică, în comparaţie cu metodele enzimatice şi au fost interpretate ca rezultat al detectării şi a des–Ang I angiotensinogenului, alături de angiotensinogenul normal [452].

În sfârşit, odată cu producerea anticorpilor monoclonali anti–angiotensinogen uman a devenit posibilă evaluarea angiotensinogenului plasmatic prin tehnica ELISA care a confirmat că există similitudine în rezultatele obţinute prin metodele enzimatice şi cele radioimunologice deşi în anumite probe plasmatice prezenţa şi a des–Ang I angiotensinogenului oferă valori mai ridicate prin tehnica ELISA [453].

În acest context cel mai mare avantaj oferit de metodele imunologice îl reprezintă facilitarea nu numai a detecţiei, ci şi a evaluării cantitative a angiotensinogenului în ţesuturi [454].

1.3. ANGIOTENSINELE

Renina acţionând asupra substratului său specific declanşează o suită de reacţii enzimatice al cărui rezultat este formarea de angiotensine (Ang).

Activarea reacţiilor din cadrul sistemului renină–angiotensină (SRA) a fost întrevăzută în mod diferit de anumite grupuri de cercetători. Peart a incubat renina cu substratul său specific în prezenţa pulberii de cărbune în vederea adsorbţiei Ang formate pentru protejarea de a fi degradată [459]. Grupul condus de Skeggs a acidifiat plasma înaintea adăugării de renină [460], iar Bumpus şi colab. [461] au purificat substratul reninei înainte de incubare.

Se cunosc astăzi cel puţin patru tipuri de angiotensină care rezultă din interacţiunea reninei cu substratul său specific:

- Ang I este un decapeptid rezultat prin clivarea angiotensinogenului de către renină şi a căror implicaţii biologice nu sunt cunoscute;
- Ang II–un octapeptid rezultat din interacţiunea Ang I cu o dipeptidilcarboxipeptidază specifică, care decuplează ultimii doi aminoacizi din molecula Ang I. Acest octapeptid a fost considerat o lungă perioadă de timp singurul principiu biologic activ al sistemului;

Scanned with OKEN Scanner

– Ang III este un heptapeptid care poate rezulta din Ang II prin hidroliza legăturii peptidice dintre primii doi acizi aminați din molecula octapeptidului. Ea mai poate rezulta și din Ang I după desprinderea acidului aspartic din poziția 1, formându-se un nonapeptid care sub acțiunea enzimei de conversie se transformă în Ang III;
– Ang IV are în structura sa șase aminoacizi și a fost evidențiată la nivelul encefalului.

Secvența aminoacizilor din structura angiotensinelor a fost confirmată prin sinteza lor [462, 463, 464].

Au fost identificate două forme de angiotensine naturale în funcție de acidul aminat din poziția 5 a moleculei. Angiotensina de la om, cal, porc și șobolan conține izoleucină în poziția 5, iar la bovine, păsări și oaie al cincilea acid aminat este reprezentat de valină [465, 466, 467, 468, 469, 470, 471]. Angiotensinele sunt stabile în soluții fiziologice, dar sunt hidrolizate în mediu acid sau alcalin și degradate la un pH mai mare de 9,5. În soluții foarte diluate ele sunt adsorbite pe suprafețe de sticlă, motiv pentru care pentru captarea și păstrarea lor se folosesc vase siliconate [472].

1.3.1. ANGIOTENSINA I

Considerată un prohormon, inactiv din punct de vedere biologic, se formează în sânge din interacțiunea reninei circulante active asupra angiotensinogenului produs în ficat. Angiotensinogenul–glicoproteină plasmatică suferă în prezența reninei, un proces de hidroliză între acizii aminați 10 și 11 transformându-se într-un decapeptid–Ang I ce conține segmentul N–terminal al substratului (figura 1.13.).

Există diferențe între specii privitoare la legătura peptidică pe care renina o hidrolizează la nivelul substratului. Astfel, în timp ce la cal, porc și șobolan renina hidrolizează legătura peptidică dintre leucină–leucină (din pozițiile 10 și respectiv 11), la om se clivează lanțul peptidic între leucină și valină, din aceleași poziții. Acest proces asigură gradul de specificitate la formarea Ang I [473, 474, 475].

Izolarea din plasmă a mai multor tipuri de angiotensine și a enzimelor care le transformă pe unele în altele de către grupul condus de Skeggs [476] a dat posibilitatea de a interpreta că aceste reacții se desfășoară în sângele circulant în vederea manifestării imediate a aptitudinilor lor biologice. Cercetările ulterioare au pus însă în evidență că aceste procese se realizează foarte lent în plasmă, iar semnificația lor fiziologică este redusă [477].

Scanned with OKEN Scanner

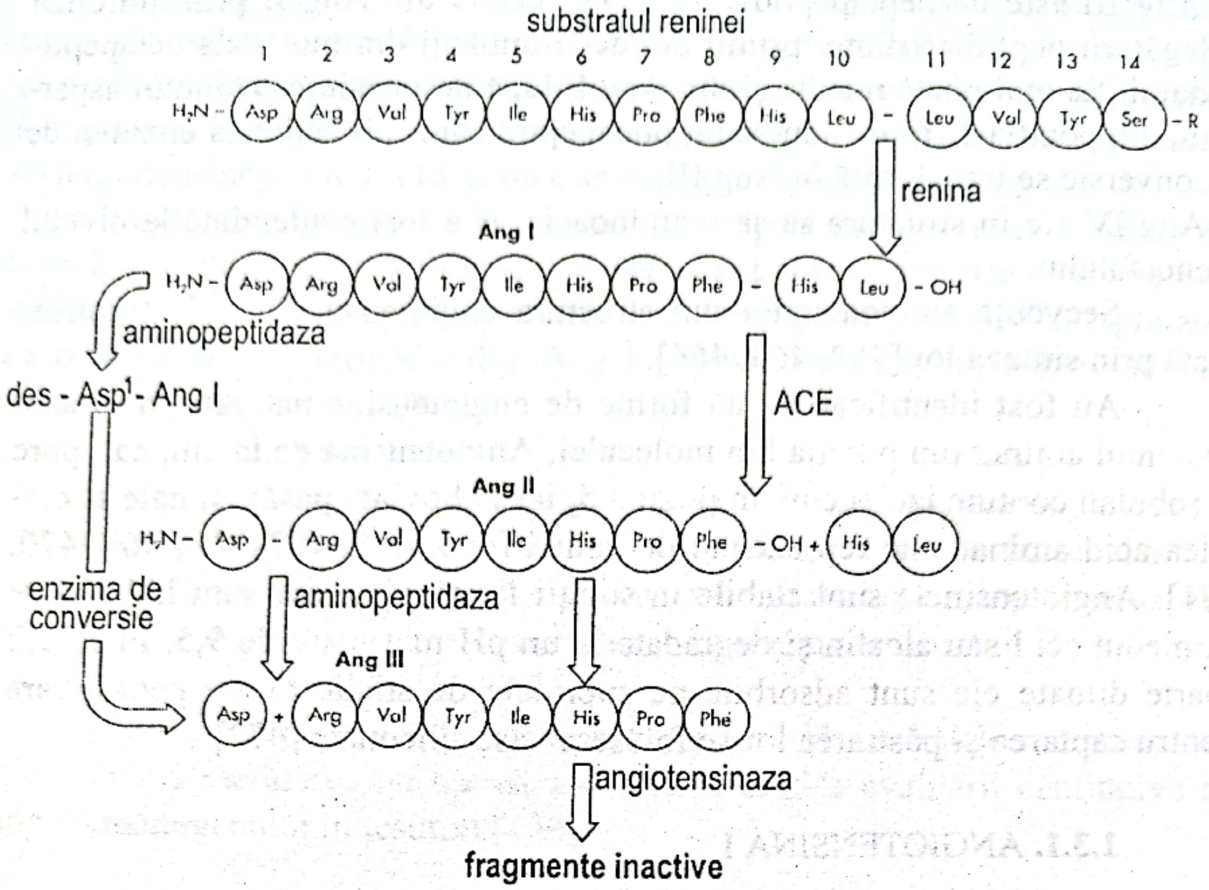


Figura 1.13. Modalităţi de generare a angiotensinelor [549].

1.3.2. ANGIOTENSINA II

Transformarea Ang I în Ang II are loc în special la nivelul plămânului, mai precis la suprafaţa endoteliului vaselor pulmonare. În 3 până la 5 secunde, timp în care o masă de sânge traversează reţeaua vasculară pulmonară, 80 % din Ang I (în concentraţie fiziologică) se transformă în Ang II.

Enzima responsabilă de transformarea Ang I în Ang II este o glicoproteină acidă cu greutatea moleculară de 150 kDa – peptidildipeptid hidrolază denumită generic „enzimă de conversie". Acţiunea enzimei de conversie este relativ nespecifică întrucât ea nu acţionează numai asupra Ang I, ci şi asupra bradikininei, enkefalinelor, neurotensinei, substanţei P şi a factorului eliberator de hormon luteinizant [478, 479].

Angiotensina II formată la nivelul plămânului nu este degradată aşa încât ea se găseşte în concentraţie ridicată în sângele din venele pulmonare.

În circulaţia sistemică, Ang II are o viaţă relativ scurtă (timp de înjumătăţire 10–20 de secunde) întrucât se găsesc numeroase enzime, denumite generic angiotensinaze, care degradează octapeptidul în peptide mai mici. Asupra specificităţii de acţiune există încă discuţii, se ştie totuşi că

Scanned with OKEN Scanner

cele mai multe angiotensinaze sunt activate de cationi bivalenţi şi în special de ionul de calciu şi inhibate de agenţi chelatori inclusiv EDTA [480]. Enzime ca tripsina, chimotripsina, pepsina, leucinaminopeptidaze, carboxipeptidaze, distribuite preponderent la nivel tisular ar putea fi implicate în catabolismul Ang II. Acţiunea lor reclamă condiţii particulare; spre exemplu, extractele pulmonare sunt foarte bogate în angiotensinaze, dar studiile *in vivo* au precizat că Ang II este în mică măsură degradată în timpul traversării circulaţiei pulmonare [481].

1.3.3. ANGIOTENSINA III

Angiotensina III este un metabolit biologic activ al Ang II, rezultat prin desprinderea acidului aspartic din poziţia N–terminală sub acţiunea aminopeptidazei A. Ang III mai poate rezulta prin activarea unei căi alternante, pornindu-se de la Ang I care într-o primă etapă sub acţiunea aminopeptidazei A se transformă în des-Asp–Ang I ce devine substrat pentru enzima de conversie transformându-se într-un heptapeptid [482]. Această cale a fost evidenţiată şi *in vivo* la şobolan, în plasma căruia a fost pusă în evidenţă des-Asp–Ang I. Ea are pondere redusă în generarea Ang III, iar la om după administrarea intravenoasă a des–Asp– Ang I se obţine creşterea presiunii sanguine şi a aldosteronemiei, efecte blocate prin administrarea inhibitorilor enzimei de conversie [483].

Efectele presoare ale Ang III sunt mai reduse decât ale Ang II reprezentând aproximativ 30 % din activitatea acesteia din urmă. Se pare că şi efectele aldosteron–eliberatoare ale heptapeptidului sunt mai reduse decât ale Ang II deşi iniţial s-a crezut că acesta ar putea fi considerat ca fiind factorul eliberator de aldosteron [484, 485]. Aparentele date contradictorii privind concentraţia plasmatică a Ang III, ca şi importanţa fiziologică a ei, sunt estompate de datele diferite obţinute la diferite specii animale [486, 487].

Plecându-se de la constatatea că mai mulţi derivaţi de Ang I pot avea acţiuni biologice s-a căutat să se stabilească ce parte din aceste peptide le conferă acţiuni biologice. De la început cercetările au fost focalizate asupra segmentului C–terminal al angiotensinelor astfel încât utilizându-se carboxipeptidaze s-au obţinut des–Leu^{10}–Ang I şi des-Fenil^{8}–Ang II. Din aceste studii s-a ajuns la concluzia că segmentul acesta conferă angiotensinelor specificitate de cuplare cu receptorii celulari.

1.3.4. ANGIOTENSINA IV

Rezultă după acţiunea hidrolitică a aminopeptidazei B asupra heptapeptidului des–Asp–Ang II ca urmare a clivării legăturii peptidice dintre arginină şi valină. Se pare că Ang IV se formează doar la nivelul encefalului

Scanned with OKEN Scanner

unde îşi realizează de fapt şi acţiunile fiziologice. Studii autoradiografice au pus în evidenţă existenţa unor receptori specifici mai ales în cortexul cerebral, hipocampus, ganglioni bazali, cerebel şi măduva spinării, dar şi în rinichi, inimă, suprarenale, splină şi colon [488].

1.3.5. METABOLISMUL ANGIOTENSINELOR

Studii imunohistochimice au precizat coexistenţa Ang II cu renina în granulele celulelor epitelioide din arteriola aferentă [489, 490]. Originea intraglomerulară a Ang II este necunoscută întrucât nici angiotensinogenul, nici Ang I precursorul Ang II nu au fost detectate la acest nivel [491, 492]. S-a tras concluzia că Ang II nu se generează în aceste celule, prezenţa sa fiind rezultatul unui proces de endocitoză receptor mediată, urmat de fuziunea endozomilor astfel formaţi cu granulele de renină [491, 493].

Asupra semnificaţiei funcţionale a coexistenţei Ang II cu renina în granulele din celulele epitelioide s-a emis ipoteza că stimulul secretor ar realiza coeliberarea lor în sângele arteriolar în vederea acţiunii rapide, locale a Ang II la nivelul complexului glomerulotubular [494]. Desigur, şi în aceste circumstanţe semnificaţia funcţională a eliberării Ang II nu este de importanţă deosebită mai ales că octapeptidul a fost evidenţiat numai în celulele juxtaglomerulare de şobolan.

Angiotensinele sunt rapid catabolizate atât în plasmă, dar mai ales la nivelul ţesuturilor. Intensitatea proceselor de catabolism poate fi apreciată prin rata clearance-ului metabolic (RCM). Clearance-ul metabolic al Ang II rămâne constant în timpul perfuziei cu doze presoare crescânde de octapeptid ceea ce pune în evidenţă că vasoconstricţia "*per se*" nu interferează cu clearance-ul său metabolic [495]. Clearance-ul tisular al angiotensinelor nu este rezultatul doar al acţiunii angiotensinazelor, ci şi a legării de receptorii specifici din teritoriul respectiv [496, 497]. Degradarea Ang I şi Ang II în timpul unui singur pasaj prin vasele periferice reduce cu 40 până la 50 % din cantitatea lor la nivelul extremităţii cefalice, 30–80 % în vasele coronare, 60–70 % în ficat şi 75–95 % la nivelul rinichiului. Ang II nu este degradată la nivelul plămânului.

Studii realizate prin analiză HPLC a efluentului din organele izolate şi perfuzate au confirmat rezultatele anterioare, scoţând în evidenţă că aproximativ 35 % din catabolismul Ang I este rezultatul acţiunii enzimei de conversie.

Metabolismul angiotensinelor a fost studiat şi prin utilizarea de peptide marcate. S-a evidenţiat astfel că în circulaţia pulmonară 70 % din

Scanned with OKEN Scanner

^{125}I–Ang I este convertită în ^{125}I–Ang II, 66 % din ^{125}I-Ang II este metabolizată în timpul unui singur pasaj prin circulația renală. Rosivall și colab. au găsit că la nivelul rinichiului 22 % din ^{125}I–Ang I este transformată în ^{125}I–Ang II, proporție care nu este modificată dacă se reduce fluxul sanguin renal [498].

Eficacitatea conversiei pulmonare a Ang I în Ang II nu este constantă și are o valoare invers proporțională cu cea a fluxului sanguin pulmonar [499]. Hipoxia produce *in vivo* scăderea ireversibilă a conversiei Ang I în Ang II, probabil datorită vasoconstricției consecutive în patul pulmonar. Depleția sodată pare să crească eficiența conversiei pulmonare a Ang I, astfel încât statusul sodic poate induce o variabilitate de la 54 la 104 % a procesului de transformare a Ang I în Ang II [500]. Enzima de conversie (EC) responsabilă de conversia Ang I în Ang II se află nu numai la suprafața endoteliului vascular pulmonar, ci și a vaselor sistemice și chiar în adventicea și media vaselor sanguine [501]. EC s-a evidențiat și perivascular și la nivel tisular [502].

Angiotensinele pot urma mai multe căi metabolice (figura 1.14.), fapt sugerat de existența în plasma sanguină a subiecților normali a numeroase peptide angiotensinice în concentrație diferită. Astfel, Ang I are o concentrație dublă față de Ang II. Celelalte peptide angiotensinice se găsesc în concentrație mult inferioară și față de Ang II.

Identificarea derivaților de acțiune atât a aminopeptidazelor (Ang III și Ang 2–10), cât și a endopeptidazelor (Ang 1–7) a scos în evidență existența a cel puțin două căi metabolice *in vivo*.

La pacienții hipertensivi care au primit tratament cu inhibitori ai EC s-a constatat creșterea de până la 10 ori a concentrației plasmatice a Ang I, dar și a Ang (1–7) și a Ang (2–10) ceea ce evidențiază intervenția atât a aminopeptidazelor, cât și a endopeptidazelor în metabolizarea Ang I [503, 504].

Aminopeptidazele dețin ponderea cea mai ridicată în metabolismul angiotensinelor, fapt ilustrat de protecția lor prin modificarea extremității amino-terminale a peptidelor respective [505, 506, 507].

S-au constatat diferențe privind căile de metabolizare a peptidelor angiotensinice din plasmă și țesuturi. Astfel, la nivelul hipotalamusului, bulbului rahidian și amigdalei predomină Ang (1–7), Ang II și Ang I față de produșii rezultați sub acțiunea aminopeptidazelor [508]. În plasma de șobolan Ang III și Ang (2–10) se află în concentrații mai ridicate decât în plasma umană, ceea ce denotă că metabolismul angiotensinelor pe calea aminopeptidazelor este mai activ la șobolan decât la om.

inv. 154574

Scanned with OKEN Scanner

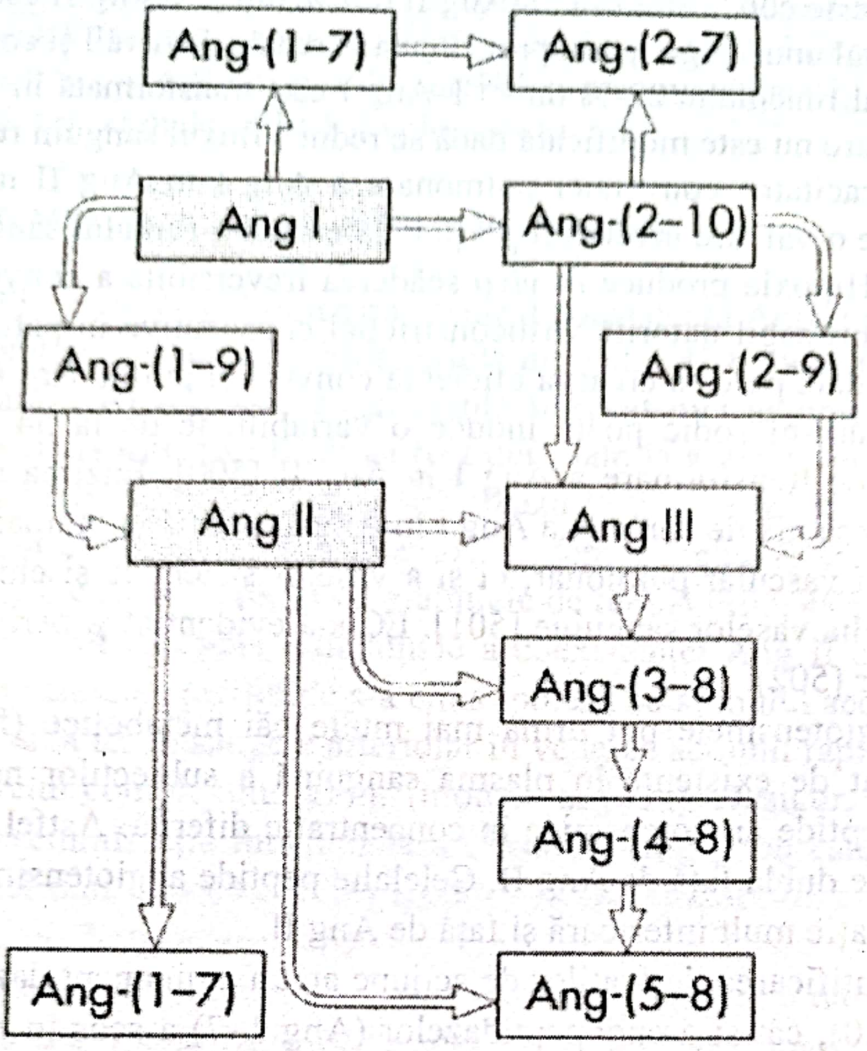


Figura 1.14. Căi de metabolizare a angiotensinelor [504].

Conversia Ang I în Ang II de către enzima specifică se poate realiza în două trepte, mai întâi carboxipeptidaza transformă decapeptidul într-un nonapeptid, Ang (1–9) şi apoi în octapeptidul Ang II. Interesant este faptul că Ang (1–9) inhibă activitatea enzimei de conversie [509]. Oparil şi colab. au demonstrat că Ang (1–9) nu este convertită în Ang II în circulaţia pulmonară, în schimb ea se prezintă cu un nivel ridicat în rinichi. Aceasta nu exercită efect presor la câine, nu produce contracţia inelelor de aortă de iepure şi prezintă efect presor în proporţie de 5 % faţă de Ang I la şobolani trataţi cu pentolinium [510].

S-a demonstrat că Ang II poate fi generată din Ang I de către un număr apreciabil de serinproteaze cum ar fi tonina, catepsina G, chimotripsina chimaza din mastocite sau din miocardul uman. De aceea, inhibitorii enzimei de conversie nu suprimă decât parţial efectele administrării, pe preparate de vase sanguine izolate, a Ang I [511].

Scanned with OKEN Scanner

Angiotensina (1–7) a fost mult timp considerată ca un metabolit inactiv al Ang II. Anumite studii au reliefat faptul că şi acest metabolit are semnificaţii fiziologice, având efect presor însă mai redus faţă de Ang II, dar nu intervine în secreţia de aldosteron şi nu are nici activitate dipsogenă [512, 513, 514]. Numeroşi autori consideră Ang (1–7) ca fiind un neuropeptid. Neuronii şi fibrele nervoase Ang (1–7) imunoreactive au fost evidenţiate în hipotalamus, trunchiul cerebral şi neurohipofiză [515]. Acest peptid intervenind în transmiterea sinaptică din lanţul neuronal implicat în controlul hemodinamicii, în secreţia de vasopresină, etc. [516].

Angiotensina (1–7) poate fi generată din Ang I prin acţiunea unor variate endopeptidaze a căror prezenţă în creier este foarte abundentă [517]. De asemenea, Ang (1–7) poate rezulta din Ang II sub acţiunea prolil endopeptidazei şi carboxipeptidazei P [518, 519].

Rinichiul este recunoscut ca fiind calea cu ponderea cea mai mare în eliminarea componentelor SRA, deci şi a angiotensinelor, deşi şi alte organe, cum ar fi în special ficatul, sunt implicate în metabolismul şi în eliminarea acestor peptide. Marginea în perie a celulelor tubulare proximale, bogată în EC şi metaloendopeptidaze neutre, reprezintă locul major de degradare nu numai a reninei, dar şi a angiotensinelor filtrate.

Studii realizate la persoane hipertensive tratate cu inhibitori ai enzimei de conversie au precizat că după administrarea intravenoasă a ^{125}I–Ang II, aceasta este prezentă în proporţie foarte crescută în rinichi [520, 521]. Aproximativ 80 % din Ang I infuzată este reţinută de rinichi la un singur pasaj al sângelui prin acest organ.

1.3.6. RECEPTORII ANGIOTENSINERGICI

Angiotensinele acţionează asupra celulelor ţintă din numeroase teritorii: aparatul cardiovascular, glandele suprarenale, rinichi, ficat, creier, glanda hipofiză etc. Cele mai multe efecte ale angiotensinelor sunt rezultatul interacţiunii dintre aceste peptide formate în circulaţie sau produse local, în apropierea locului lor de acţiune, cu receptori specifici prezenţi în membrana celulelor ţintă [522, 523].

După obţinerea a numeroşi liganzi specifici atât de natură peptidică, cât şi nonpeptidică, prin utilizarea tehnicilor autoradiografice şi a liganzilor marcaţi s-au evidenţiat numeroase subtipuri de receptori angiotensinergici. Primele studii, ca de altfel şi cele mai numeroase, au avut drept ţintă evidenţierea şi caracterizarea receptorilor pentru Ang II.

Cei mai mulţi receptori angiotensinergici au afinitate de legare pentru angiotensine (Kd) în concentraţie de ordinul subnanomolar şi prezintă o

Scanned with OKEN Scanner

cinetică rapidă de asociere şi disociere pentru agonişti. Antagoniştii angiotensinelor prezintă însă o rată de disociere mai redusă şi pentru acest motiv ei sunt folosiţi mai frecvent în probele radioimunologice de evidenţiere a receptorilor. Astfel de studii se realizează în omogenate tisulare sau în fracţii bogate în membrane, dar şi în suspensii de celule integre sau în culturi celulare.

Afinitatea de legare a analogilor angiotensinici creşte odată cu creşterea alcalinităţii porţiunii amino-terminale a moleculei şi scade prin substituţii acide ale aceluiaşi fragment al moleculei [524]. Aşa se explică probabil, de ce [Sar^1] Ang II are afinitate mai mare pentru receptori faţă de compusul natural care este [Asp^1] Ang II. Îndepărtându-se acidul aminat N-terminal din structura Ang II se generează des–Asp^1–Ang II sau Ang III, reducându-se semnificativ afinitatea de legare a receptorului în aproape toate ţesuturilor cu excepţia corticosuprarenalei. Acest fapt reflectă diferenţele de structură a receptorului în acest teritoriu.

Receptorii membranari pentru Ang II au fost caracterizaţi prin studii farmacologice [525] şi de analiză a legării liganzilor marcaţi [526] în numeroase ţesuturi. Aceştia, în general, au similaritate în afinitatea de legare şi specificitate comparabilă atât pentru Ang II, cât şi pentru analogii structurali. Purificarea şi caracterizarea fizică a situsurilor Ang II-receptoare au fost complicate de dificultăţile de solubilizare a receptorilor în formă stabilă şi activă pentru a se permite analizarea lor prin procedee standard de fracţionare. De aceea, s-a recurs la marcarea prin fotoafinitate care realizează legături covalente ce permit solubilizarea acestora.

Ca urmare a acestor cercetări s-a tras concluzia că există cel puţin două tipuri de receptori pentru Ang II. Coroborând aceste rezultate cu cele obţinute prin utilizarea antagoniştilor s-a ajuns la concluzia că există două populaţii distincte de receptori pentru Ang II, care iniţial au fost caracterizaţi pentru celulele glandei corticosuprarenale. Deşi aceştia leagă în mod similar Ang II, losartanul (blocant al receptorilor angiotensinergici) previne legarea Ang II doar de un singur tip de receptori. Pentru acest motiv, receptorii blocaţi de losartan au fost etichetaţi ca receptori de tip B, în timp ce receptorii indiferenţi faţă de losartan au fost consideraţi receptori A. În uterul uman au fost evidenţiaţi numai receptori A, în timp ce în membrana miocitelor din aorta de şobolan au fost detectaţi doar receptori de tip B [527].

Prezenţa celor două tipuri de receptori a fost demonstrată şi în membrana hepatocitelor de şobolan şi a unei linii celulare (PC 12W) din feocromocitomul de şobolan.

Cu ocazia reuniunii „Asociaţiei Americane a Inimii" din 1990 s-a stabilit nomenclatura definitivă a receptorilor pentru Ang II în cele două

Scanned with OKEN Scanner

subtipuri „AT_1" şi „AT_2". S-a observat că toate efectele fiziologice cunoscute ale Ang II sunt mediate de receptorii AT_1. Ulterior, s-a emis părerea că în membrana celulară s-ar putea înlănţui şi alţi receptori pentru angiotensine, în speţă AT_3 şi AT_4 etc. diferiţi de subclasele AT_1 şi AT_2 [528].

1.3.6.1. RECEPTORII AT_1

Sunt larg răspândiţi în organismul tuturor speciilor examinate. Ei au fost identificaţi în miocitele arterelor, rinichi, glanda suprarenală, uter, ficat, plămân, tractusul gastrointestinal, placentă, vezica urinară la şobolan, iepure, câine, cobai, porc, maimuţă şi om. Aceşti receptori au fost clonaţi iniţial în culturi de celule din zona glomerulată a corticosuprarenalei bovine, în miocite din aorta de şobolan şi în celule umane.

La şobolan s-au identificat două subtipuri de receptori AT_1 (AT_{1A} şi AT_{1B}) care conţin în proporţie de 96 % aceiaşi acizi aminaţi. Receptorii AT_{1A} au fost identificaţi în ţesutul vascular şi renal, în timp ce receptorii AT_{1B} în glandele suprarenală şi hipofiza de şobolan şi la nivelul celulelor mesangiale. Receptorii AT_{1A} au afinitate foarte ridicată pentru losartan şi sunt indiferenţi pentru blocantul PD123319, în timp ce receptorii AT_{1B} au sensibilitate mare faţă de PD123319 şi nu sunt sensibili la losartan.

Proprietăţile receptorilor AT_1 au fost larg studiate şi s-a observat că activarea lor poate fi urmată de declanşarea unor fenomene ce implică participarea câtorva mesageri de ordinul II şi/sau a canalelor de sodiu, potasiu, clor şi calciu.

1.3.6.2. RECEPTORII AT_2

Receptorii AT_2 se găsesc împreună cu receptorii AT_1 în numeroase ţesuturi cum ar fi vase arteriale, inimă, rinichi, glanda suprarenală, creier, uter, pancreas, ovar etc.

Aceşti receptori au fost clonaţi în celule de fetuşi de şobolan, constatându-se că sunt alcătuiţi din 363 de aminoacizi din care 34 % sunt comuni cu ai receptorilor AT_1 şi prezintă şapte domenii transmembranare. S-a sugerat existenţa a două subtipuri AT_{2A} şi AT_{2B} în ţesutul cerebral şi glanda suprarenală, care au însă distribuţie diferită [529, 530].

Receptorii AT_2 cerebrali sunt implicaţi în dipsogeneză, în autoreglarea fluxului sanguin cerebral. Densitatea crescută a receptorilor AT_2 la fetuşi de diferite specii sugerează faptul că ei ar interveni în dezvoltarea fetală. La nivelul foliculului ovarian, receptorii AT_2 ar modula progresia atreziei foliculare facilitând procesul de apoptoză a celulelor granulare. De

Scanned with OKEN Scanner

asemenea, receptorii AT_2 se presupune că sunt implicați în controlul mecanismului presiune–natriureză la șobolani.

Afinitatea receptorilor Ang II pentru agoniști este influențată de o serie de factori biochimici cum ar fi guanilnucleotidele, de concentrația sodiului din mediu prin influențarea cuplării subunității de recunoaștere a receptorului cu proteinele G membranare. Astfel, în condiții de restricție sodată crește sensibilitatea glandei suprarenale la Ang II, în timp ce reactivitatea vasculară scade și invers în condiții de încărcare sodată. Aceste procese sunt rezultatul modificării numărului de receptori din țesuturile respective.

La nivelul glandei hipofize și a organului subfornical, expresia receptorilor pentru Ang II este sub controlul hormonilor estrogeni. De asemenea, în condiții de deshidratare crește numărul situsurilor Ang II–sensibile la nivelul organului subfornical.

Derularea proceselor intracelulare după cuplarea Ang II cu receptorii specifici sunt diferite în funcție de țesutul asupra căruia acționează peptidul. Astfel, la nivelul zonei glomerulate a glandei suprarenale Ang II inițiază procesul de stimulare a secreției de aldosteron prin creșterea concentrației calciului citozolic. Creșterea concentrației calciului citozolic este rezultatul activării fosfolipazei C membranare care acționând .asupra inozitolpolifosfatului membranar generează diacilglicerol și inozitoltrifosfat. Acesta din urmă reprezintă mesagerul intracelular al cuplării Ang II cu receptorul membranar specific și are rol de mobilizare a calciului din depozite și trecerea lui în citozol. În acest proces sunt implicate și proteinele G membranare, între care proteina G care este cuplată cu fosfolipaza C și a cărei activare induce lanțul de fenomene prezentat, dar și proteina Gi care determină inhibarea adenilatciclazei membranare [531, 532].

Secreția susținută de aldosteron ca urmare a acțiunii Ang II este rezultatul menținerii unui nivel ridicat al Ca^{2+} citozolic. Creșterea Ca^{2+} citozolic se realizează printr-un influx susținut al acestui ion din mediul extracelular produs de activarea canalelor de Ca^{2+} voltaj dependente și a schimburilor Na^+/Ca^{2+} [533, 534]. Un alt mecanism, adițional, al intrării Ca^{2+} în celulele corticosuprarenalei ca urmare a acțiunii Ang II la nivelul zonei glomerulate ar consta în internalizarea complexului Ang II–receptor care ar realiza generarea în continuare de IP_3 în menținerea concentrației ridicate a calciului intracelular (figura 1.15.). Un astfel de mecanism ar putea contribui la menținerea susținută a concentrației calciului și în alte celule ca urmare a cuplării agonistului cu receptorul specific.

Scanned with OKEN Scanner

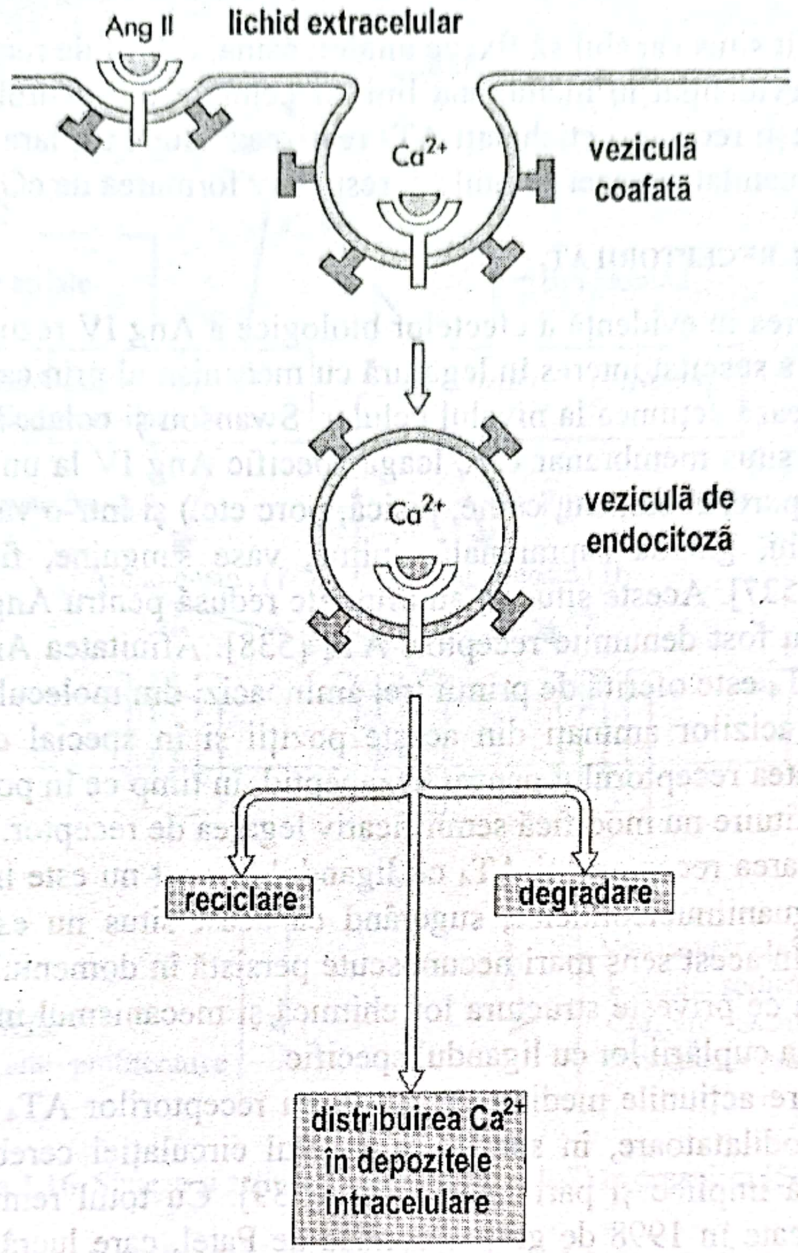


Figura 1.15. Mecanismul posibil prin care angiotensina II produce creşterea concentraţiei calciului citozolic în celulele zonei glomerulate a corticosuprarenalei [300].

Inozitoltrifosfatul reprezintă mesagerul celular al Ang II şi pentru contracţia musculaturii netede şi pentru hiperplazia şi hipertrofia celulară observată atât în media arterelor la persoane hipertensive, cât şi la nivelul zonei glomerulate a corticosuprarenalei.

Asupra semnalului de traducere a cuplării Ang II cu receptorii AT_2 datele sunt încă în dezbatere. Unii cercetători au observat o scădere a cGMP în neuronii din culturi celulare de creier de şobolan nou-născuţi, alţi cercetători au constatat modificări ale activităţii tirozinfosfatazelor şi în sfârşit există date care au pus în evidenţă modificări ale fluxurilor ionice de potasiu, sodiu, clor şi calciu ca urmare a activării acestor receptori [535, 536].

Scanned with OKEN Scanner

1.3.6.3. RECEPTORII AT_3

Un alt situs capabil să fixeze angiotensina, diferit de recptorii AT_1 şi AT_2 a fost evidenţiat în membrana liniilor celulare din neuroblastomul de şoarece. Aceşti receptori etichetaţi AT_3 realizează după cuplare cu agonistul stimularea guanilat ciclazei solubile şi respectiv formarea de cGMP.

1.3.6.4. RECEPTORII AT_4

Punerea în evidenţă a efectelor biologice a Ang IV rezultat al degradării Ang II a suscitat interes în legătură cu mecanismul prin care acest peptid îşi realizează acţiunea la nivelul celular. Swanson şi colab. au descoperit un astfel de situs membranar care leagă specific Ang IV la un mare număr de specii (iepure, cobai, cal, câine, pisică, porc etc.) şi într-o varietate de ţesuturi (rinichi, glanda suprarenală, inimă, vase sanguine, ficat, plămân, creier etc.) [537]. Aceste situsuri au afinitate redusă pentru Ang I, Ang II şi Ang III şi au fost denumite receptori AT_4 [538]. Afinitatea Ang IV pentru receptorii AT_4 este oferită de primii trei aminoacizi din molecula sa, întrucât substituirea acizilor aminaţi din aceste poziţii şi în special din poziţia 1 scade afinitatea receptorului pentru hexapeptid, în timp ce în poziţiile 4, 5 şi 6 orice substituire nu modifică semnificativ legarea de receptor.

Cuplarea receptorului AT_4 cu ligandul marcat nu este influenţată de analogi ai guanilnucleotidelor, sugerând că acest situs nu este cuplat cu proteine G. În acest sens mari necunoscute persistă în domeniul receptorilor AT_4, în ceea ce priveşte structura lor chimică şi mecanismul intracelular de semnalizare a cuplării lor cu ligandul specific.

Printre acţiunile mediate de activarea receptorilor AT_4 se înscriu şi efectele vasodilatatoare, în special la nivelul circulaţiei cerebrale. Aceste efecte par să implice şi participarea NO [539]. Cu totul remarcabile sunt datele publicate în 1998 de grupul condus de Patel, care lucrând pe culturi de celule endoteliale de arteră pulmonară de porc au precizat că activarea receptorilor AT_4 din membrana acestor celule de către Ang IV activează nitric oxid sintetaza şi generează cGMP [540].

1.3.6.5. RECEPTORII ANGIOTENSINERGICI ANG (1–7)

Cercetările întreprinse în urmă cu aproximativ 10 ani de către grupul condus de Ferrario au scos în evidenţă că în cadrul sistemului renină-angiotensină pot apărea compuşi cu acţiune opusă Ang II [541]. Dintre aceştia fragmentul 1–7, care a fost identificat în plasmă şi urina umană şi în plasma şi diferite ţesuturi de la diverse specii animale poate rezulta atât din Ang I, cât şi din Ang II sub acţiunea unei postprolin carboxipeptidaze (figura 1.16.).

Scanned with OKEN Scanner

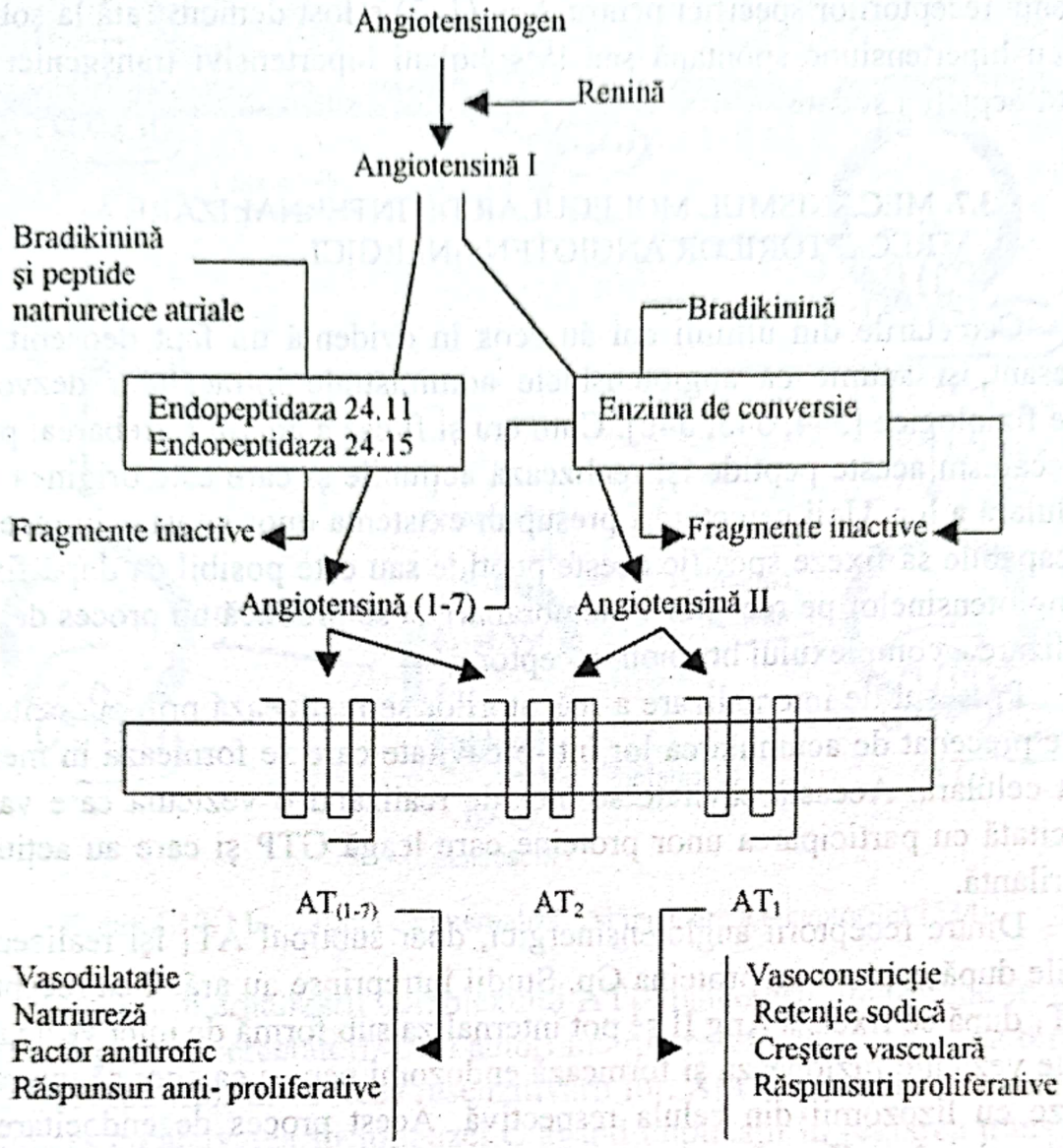


Figura 1.16. Sinteza şi acţiunile angiotensinei (1–7) în organism [580].

Generarea Ang (1–7) se află sub controlul a trei endopeptidaze (neprilisina, metaloendopeptidaze şi prolil-endopeptidaze) ce intervin şi în metabolismul altor principii biologic active ca factorul natriuretic atrial, bradikinina, hormonii eliberatori hipotalamici etc. [542, 543]. S-au descris numeroase acţiuni ale Ang (1–7) cum ar fi scăderea presiunii arteriale, modularea secreţiei de vasopresină, eliberarea de prostaglandine E_2 şi oxid nitric, potenţarea efectelor vasodilatatoare ale bradikininei etc.

Tratamentul cronic cu inhibitori ai enzimei de conversie creşte semnificativ nivelul plasmatic al Ang (1–7), iar inhibarea sintezei de Ang (1-7) este urmată de apariţia hipertensiunii.

S-a precizat că efectele Ang (1–7) nu se realizează prin intermediul receptorilor AT_1 şi AT_2, ci prin cuplarea peptidului de un situs specific.

Scanned with OKEN Scanner

Prezența receptorilor specifici pentru Ang (1–7) a fost demonstrată la șobolani cu hipertensiune spontană sau la șobolani hipertensivi transgenici în timpul depleției sodate.

1.3.7. MECANISMUL MOLECULAR DE INTERNALIZARE A RECEPTORILOR ANGIOTENSINERGICI

Cercetările din ultimii ani au scos în evidență un fapt deosebit de interesant, și anume că angiotensinele administrate intracelular dezvoltă efecte fiziologice [544, 545, 546]. Cum era și firesc a apărut întrebarea: prin ce mecanism aceste peptide își realizează acțiunile și care este originea intracelulară a lor. Unii cercetători presupun existența unor situsuri intracelulare capabile să fixeze specific aceste peptide sau este posibil ca după fixarea angiotensinelor pe receptorii membranari să se producă un proces de internalizare a complexului hormon–receptor.

Procesul de internalizare a receptorilor se realizează prin endocitoză și este precedat de acumularea lor într-o cavitate care se formează în membrana celulară. Această cavitate se închide realizând o veziculă care va fi endocitată cu participarea unor proteine care leagă GTP și care au acțiune fosforilantă.

Dintre receptorii angiotensinergici, doar subtipul AT_1 își realizează rolurile după cuplare cu proteina Gp. Studii întreprinse au arătat că receptorii AT_1 după ce fixează Ang II se pot internaliza sub formă de mici vezicule. Aceste vezicule fuzionează și formează endozomi pentru ca apoi să interacționeze cu lizozomii din celula respectivă. Acest proces de endocitare a complexului Ang II–receptor poate fi prevenit prin pretratarea preparatelor cu losartan, blocant specific al receptorilor de tip AT_1. Procesul de internalizare a complexului hormon–receptor a fost descris la nivelul celulelor vasculare, renale, corticosuprarenale care prezintă receptori de tip AT_1. La nivelul celulelor tubului proximal, procesul de internalizare se realizează în mod diferit la nivelul membranei apicale față de al membranei bazale.

Procesul de internalizare este urmat de reciclarea receptorilor AT_1 care reapar la nivelul membranei celulare (figura 1.17.). Acești receptori reajunși în membrana celulară au însă afinitate scăzută pentru Ang II, ceea ce probează că ei nu sunt cuplați cu proteine G membranare.

Cuplarea Ang II cu receptorii AT_1 determină modificări conformaționale traduse prin izomerizarea receptorului în forma sa activă. Activarea receptorului este urmată de o suită de fenomene care se traduc prin formarea IP_3, creșterea concentrației calciului citozolic, fosforilarea receptorului urmată de internalizarea sa.

Scanned with OKEN Scanner

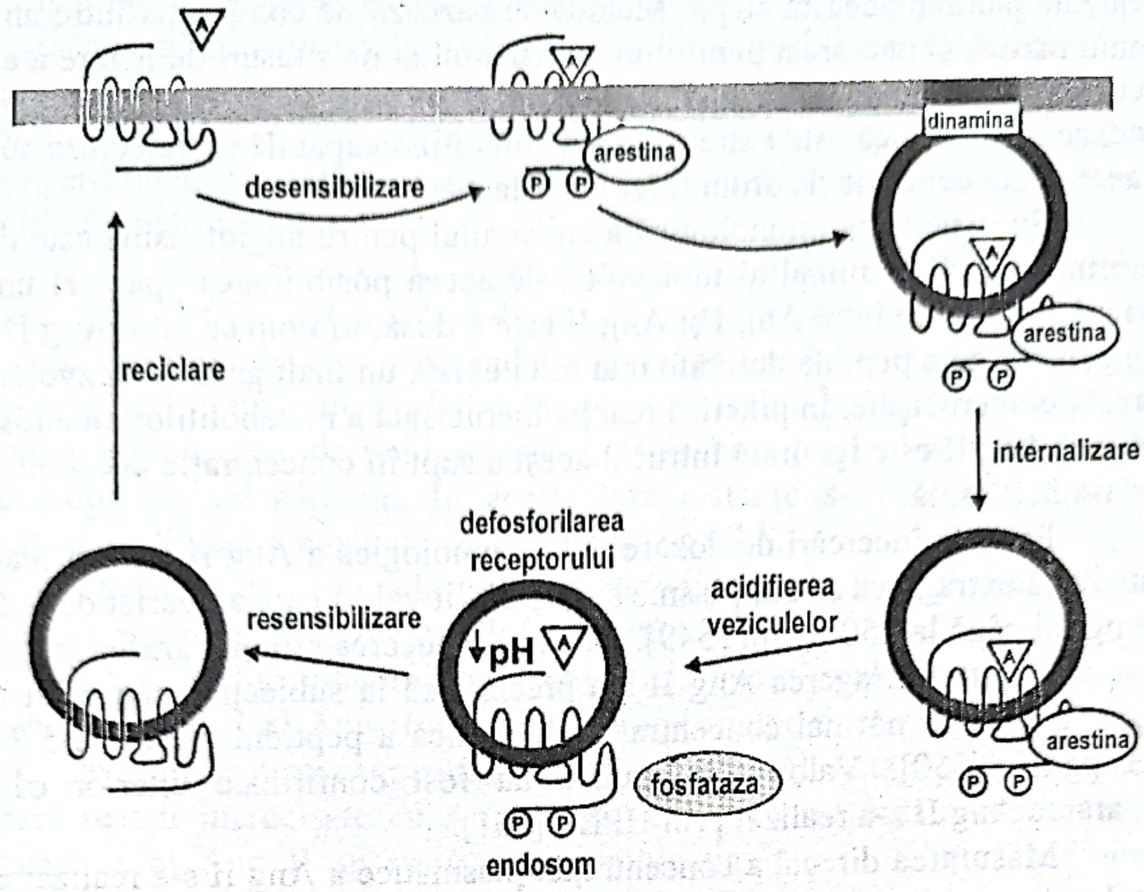


Figura 1.17. Mecanismul de internalizare şi reciclare a receptorilor [534].

Rostul internalizării complexului AT_1–ligand este interpretat în mod diferit de diverşi cercetători. Unii autori interpretează acest proces ca o reciclare a receptorilor în vederea resenzitivării lor. Alţi cercetători asociază acest proces cu activarea fosfolipazei C având implicaţii în reglarea transportului de sodiu aşa cum este presupus că se desfăşoară efectul la nivelul membranei apicale a celulelor tubului proximal. Se presupune, de asemenea, că tandemul hormon–receptor internalizat ar suferi un proces de disociere lentă, care se accelerează în condiţiile în care veziculele endocitate se acidifiază. Procesul de internalizare ar proteja astfel degradarea Ang II de către peptidazele endoteliale. Ang II astfel eliberată intracelular ar putea ajunge la nivelul nucleului unde s-au pus în evidenţă şi receptori specifici de tip AT_1 [547].

1.3.8. DETERMINAREA ANGIOTENSINEI PLASMATICE

Determinarea cantitativă a angiotensinelor circulante a fost posibilă după introducerea tehnicilor radioimunologice în deceniul şase al secolului nostru [548]. Aceste tehnici au permis măsurarea hormonilor circulanţi inclusiv a Ang II plasmatice, ale căror concentraţii scăzute nu au putut fi

Scanned with OKEN Scanner

evaluate până în această etapă. Metoda se bazează pe competiția între antigenul marcat și nemarcat pentru un număr limitat de situsuri de legare a anticorpilor. În condiții corecte de determinare și cu un antiser cu înaltă afinitate, această tehnică este extrem de sensibilă fiind capabilă să detecteze substanțe în concentrație de ordinul femtomolar.

Specificitatea imunologică a antiserului pentru angiotensine este determinată de C–terminal al moleculei, de aceea posibilitatea apariției unei reacții încrucișate între Ang I și Ang II este redusă, în timp ce între Ang II și Ang III sau alte peptide derivate mai mici există un înalt grad de dezvoltare a reacției încrucișate. În practică reacția încrucișată a metaboliților cu antiserul anti Ang II este ignorată întrucât aceștia sunt în concentrație deosebit de redusă în plasmă.

Primele încercări de dozare radioimunologică a Ang II au fost realizate după extragerea sa din plasmă și au stabilit valori care au variat de la 5–30 pg/ml până la 350 pg/ml [549]. După introducerea cromatografiei în fază inversă pentru extragerea Ang II s-a precizat că la subiecți sănătoși cu un regim alimentar normal concentrația plasmatică a peptidului este de 5,8 ± 2,3 pg/ml [550]. Valorile respective au fost confirmate ulterior când separarea Ang II s-a realizat prin HPLC [551].

Măsurarea directă a concentrației plasmatice a Ang II s-a realizat cu totul ocazional întrucât această tehnică reclamă prepararea unor anticorpi cu înaltă afinitate, dar prezintă avantaje de rapiditate și simplitate.

Utilizarea însă a anticorpilor cu afinitate scăzută reclamă extracția și concentrarea prealabilă a angiotensinelor. Printre metodele folosite pentru separarea angiotensinelor din produsul biologic sunt amintite; extragere în faza solidă pe fenilsililsilicagel sau separare prin cromatografie pe hârtie sau cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC).

Evaluarea angiotensinelor plasmatice prezintă importanță mai ales la pacienți care fac tratament cu inhibitori ai enzimei de conversie întrucât ARP poate să prezinte valori foarte ridicate datorită derulării mecanismului de feed–back declanșat de scăderea concentrației Ang II.

Măsurarea Ang II în diferite produse biologice ridică însă anumite probleme:

- datorită concentrației deosebit de joase a Ang II, tehnicile trebuie să fie foarte sensibile, iar detecția să prezinte o acurateță deosebită;
- datorită existenței precursorilor sau metaboliților Ang II în plasma sanguină este necesar ca metodele folosite să înlăture cât mai mult posibil reacțiile imunologice încrucișate astfel încât rezultatul obținut să fie cât mai aproape de nivelul plasmatic real al Ang II;
- întrucât perioada de înjumătățire a Ang II în circulație este de ordinul secundelor [17], iar *in vitro* de 2–3 minute, peptidul trebuie protejat împo-

Scanned with OKEN Scanner

triva metabolizării sale, dar în acelaşi timp trebuie să se prevină şi generarea sa din precursori în timpul manipulărilor probelor pentru dozat.

În aceste condiţii, cerinţele care se impun metodelor folosite pentru măsurarea Ang II sunt sensibilitatea, specificitatea şi precizia în vederea atingerii unei acurateţi necesare şi o mânuire potrivită a probelor în vederea evitării oricărui artefact.

Sensibilitatea metodei este asigurată de prepararea unor anticorpi cât mai specifici prin cuplarea Ang de un transportor proteic cum ar fi albumina serică, tiroglobulină etc., crescându-se astfel antigenicitatea. Ang I şi Ang II au proprietăţi antigenice, dar calitatea antiserului poate fi crescută prin utilizarea unor peptide polimerizate şi includerea lor în liposomi sau prin absorbţia lor pe cărbune. În aceste circumstanţe s-au obţinut anticorpi monoclonali pentru evaluarea componentelor SRA.

Sensibilitatea metodei radioimunologice poate fi şi ea crescută prin reducerea concentraţiei markerului, în speţă a ^{125}I.

Antiserul şi anticorpii monoclonali recunosc predominant segmentul carboxi–terminal al Ang II, acesta devenind imunoreactiv. Dacă anticorpii sunt realizaţi pentru segmentul amino–terminal al octapeptidului pot să apară reacţii încrucişate cu Ang I. De aceea, pentru măsurarea nivelului plasmatic al Ang II se recurge la combinaţia între o tehnică radioimunologică foarte sensibilă şi separarea prin HPLC.

Precizia evaluărilor este probată prin calcularea coeficientului de variaţie, iar acurateţea măsurătorilor este asigurată prin realizarea unor determinări deosebit de sensibile.

Nu în ultimul rând trebuie ţinut cont că în funcţie de manipularea eşantioanelor în plasma separată se poate genera Ang II. De aceea, sângele se recoltează cu instrumente care conţin un cocktail de inhibitori, centrifugarea trebuie să fie rapidă, iar plasma să fie îngheţată în condiţiile în care angiotensinele nu se evaluează imediat.

În momentul recoltării probelor pentru dozarea angiotensinelor trebuie să se ţină cont de variaţiile nictemerale ale angiotensinei plasmatice şi de faptul că regimul alimentar ar putea influenţa nivelul componentelor sistemului renină–angiotensină.

1.4. ENZIMA DE CONVERSIE

Istoria descoperirii enzimei de conversie este deosebit de interesantă prin intervenţia componentei de întâmplare. Astfel, grupul condus de Skeggs în efortul de a izola cât mai mari cantităţi de Ang după incubarea angiotensinogenului plasmatic crud de cal cu renină de porc, a observat că în

Scanned with OKEN Scanner

timpul purificării factorului vasoconstrictor prin distribuţie în contracurent, înlocuind pentru dializă apă distilată cu soluţie de NaCl 0,15 M, se obţine un produs mult mai activ [552]. S-a tras atunci concluzia că există mai multe angiotensine şi că principiul mai activ ar rezulta în urma acţiunii unei enzime dependentă de clor, care a fost denumită enzima de conversie (EC) a Ang I în Ang II. Datele ulterioare au scos în evidenţă că EC este activată nu numai de clor, ci şi de alţi anioni monovalenţi şi este inhibată de EDTA sau cianuri [553, 554]. Ea transformă decapeptidul Ang I într-un octapeptid Ang II prin desprinderea de la capătul C–terminal al Ang I a dipeptidului His–Leu.

Enzima de conversie este larg răspândită în organism, ea se găseşte în patul vascular atât în plasmă, cât şi la nivelul celulelor endoteliale, în rinichi, plămân, retină, creier, aparatul reproducător etc. [555, 556, 557, 558, 559]. La nivelul celulelor endoteliale EC este o ectoenzimă care acţionează asupra diferitelor peptide prezente în sânge. Studii biochimice şi imunohistochimice au pus în evidenţă că celulele epiteliale din plămân, retină şi creier conţin mai multă EC decât celulele endoteliale. La nivelul rinichiului uman şi al multor animale EC se află în marginea în perie a celulelor tubulare proximale, acestea fiind sursa cea mai importantă de EC pentru rinichi. La nivelul encefalului, organele circumventriculare, glanda hipofiză, nucleii striaţi şi cerebelul conţin mult mai multă enzimă de conversie decât scoarţa cerebrală.

Enzima de conversie este prezentă în multe ţesuturi ale diferitelor specii animale inclusiv în organul electric al *Torpedo marmorata*.

În afara EC pusă în evidenţă la nivelul ţesuturilor s-a descris şi o formă „solubilă" a acestei enzime în lichidul cefalorahidian, lichidul amniotic, lichidul seminal, urină etc. Forma solubilă rezultă în urma clivajului proteolitic de la locul de ancorare pe membrana celulară, dar mecanismul de solubilizare nu este încă descifrat.

Pe baza studiului proprietăţilor fizice, a caracteristicilor enzimatice şi a reactivităţii imunologice încrucişate a EC din diverse ţesuturi şi de la diferite specii animale s-a tras concluzia că nu există diferenţe semnificative nici de specie nici de ţesut [557, 558], cu excepţia enzimei prezente la nivelul testiculului. Enzima este dependentă de ionul de clor, inhibată de captopril, hidrolizează Ang I, are greutate moleculară similară, şi reacţionează cu anticorpii anti EC de rinichi de porc.

Enzima de conversie purificată din diverse ţesuturi umane este o glicoproteină cu greutate moleculară de 140 000–170 000 Da. Această variaţie a greutăţii moleculare este probabil rezultatul heterogenităţii conţinutului în hidraţi de carbon şi experienţei diferitelor laboratoare. Enzima se găseşte cu segmentul proteic ancorat în membrana celulară. Partea hidrofobă se află la segmentul carboxi–terminal şi conţine 17 acizi aminaţi. Enzima este puter-

Scanned with OKEN Scanner

nic glicozilată conținând 25 % hidrați de carbon, cum ar fi fucoza, manoza, acetilglucozamine și galactoză. Porțiunea proteică este identică indiferent de originea EC cu excepția celei testiculare, ceea ce probează că în genomul uman există doar o genă pentru orice enzimă de conversie.

Ca și alte proteine, EC este o metaloenzimă ce conține zinc astfel încât agenții chelatori o inactivează prin compușii sulfhidril care interacționează cu situsul activ conținător de zinc. Activitatea se desfășoară la un pH optim de 7–8; pH-ul acid disociind zincul de la nivelul situsului activ al enzimei, probabil printr-un proces de protonizare a histidinei care leagă metalul respectiv. Analiza chimică și studiile cu inhibitori marcați au precizat că molecula enzimei de conversie are un singur situs activ.

Mecanismul activării de către clor nu este elucidat, dar se presupune că interacționează cu lizina care se află în imediata apropiere a situsului activ al enzimei determinând modificări conformaționale ce facilitează legarea ei de substrat [560, 561]. Studii spectroscopice au confirmat aceste supoziții, iar concentrația clorului capabilă să asigure aceste transformări fluctuează în funcție de substrat [557]. Nu este exclus ca *in vivo* sensibilitatea față de ionii de clor să fie diferită față de probele *in vitro* în care EC trebuie solubilizată.

Studiile legate de modificările chimice ale enzimei au stabilit cel puțin patru reziduuri funcționale în apropierea situsului său activ reprezentate de tirozină, arginină, acid glutamic și lizină [562]. În urma analizei secvenței de cADN și a studiului altor metaloproteine s-a dedus că două molecule de histidină și una de acid glutamic reprezintă reziduurile care coordonează zincul drept cofactor al EC.

Enzima de conversie nu acționează numai asupra Ang I în vederea transformării ei în Ang II, ci și asupra bradikininei, enkefalinei, β neoendorfinei, neurotensinei, substanței P, factorului eliberator de hormon luteinizant, colecistokininei, gastrinei etc. Rata de hidroliză a EC este în funcție de lungimea moleculei peptidului asupra căruia acționează, ea fiind cu atât mai redusă cu cât molecula substratului este mai mare.

Posibilitatea de intervenție a EC și asupra altor peptide îi conferă aceasteia implicații deosebit de profunde în economia funcțională a organismului. În acest sens pot fi citate observațiile întreprinse încă din 1962 de către grupul condus de Erdös care a descoperit în plasmă o kininază care scindează arginina de la nivelul grupării carboxilice a bradikininei [563]. În aceeași perioadă, Vane și colab. au observat că Ang I este transformată în Ang II în cea mai mare parte în patul vascular pulmonar și că la acest nivel se inactivează rapid și bradikinina [564]. Cercetările ulterioare au elaborat conceptul că aceeași enzimă (EC) activează factorul vasoconstrictor (Ang II) și inactivează agentul hipotensor (bradikinina) participând la reglarea tonusului vascular (figura 1.18.).

Scanned with OKEN Scanner

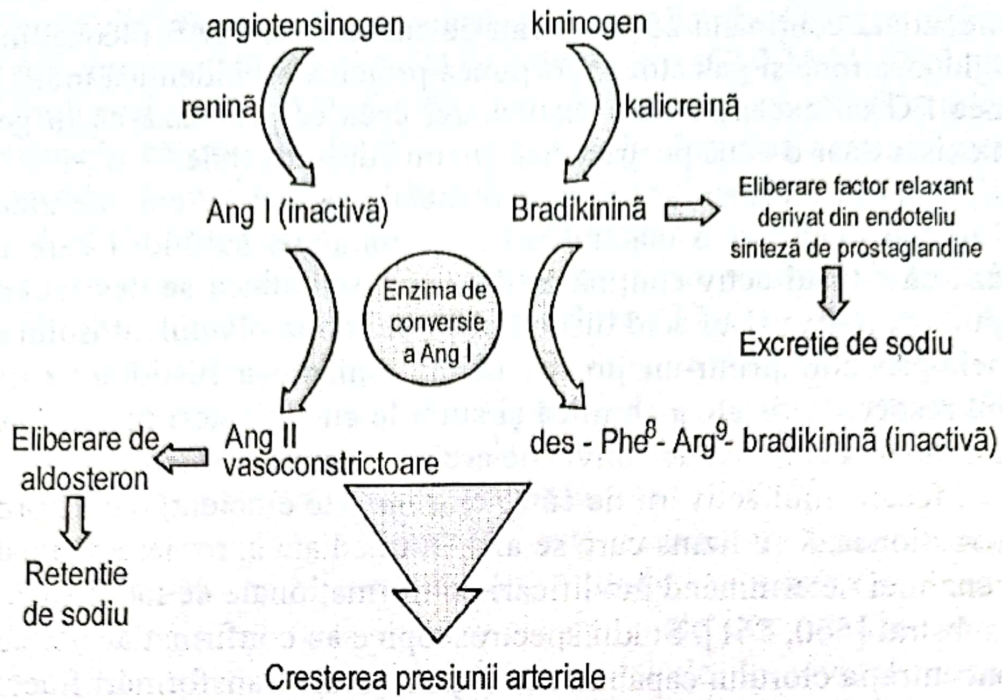


Figura 1.18. Participarea enzimei de conversie la creşterea presiunii sanguine prin reglarea activării peptidelor vasoactive [556].

Caracterizarea EC şi utilizarea inhibitorilor acestei enzime în terapeutică au impus necesitatea evaluării sale cantitative pentru a se putea interpreta participarea ei la realizarea homeostaziei circulatorii.

Încercările iniţiale de cuantificare a EC au utilizat drept substrat natural Ang I [565, 566], însă ulterior s-a recurs la substrat sintetic şi la tehnici imunochimice [567, 568, 569] care au crescut mult sensibilitatea metodelor de determinare.

Evaluarea EC ar putea fi viciată de prezenţa unor angiotensinaze endogene în preparatele de ţesut crud sau a unor peptidaze nespecifice a diferitelor substraturi naturale ale EC existente în omogenatele tisulare sau preparatelor de membrane. Aceste dificultăţi au fost înlăturate de Cushman şi Cheung care au obţinut un substrat reprezentat de un tripeptid (Hip–His–Leu) acetilat la nivelul N–terminal [567]. Acest tripeptid este rezistent la acţiunea aminopeptidazelor, iar determinarea spectrofotometrică şi spectrofluorimetrică a produselor generate: acidul hipuric şi dipeptidul His–Leu oferă nu numai specificitate, ci şi o deosebită sensibilitate acestei metode simple de evaluare a EC. În acest mod, utilizarea tripeptidului ca substrat pentru EC a crescut de aproximativ 10 ori sensibilitatea determinării în comparaţie cu utilizarea Ang I. Activitatea EC este diferită la şobolan faţă de ţesuturile umane şi variază de la un organ la altul. Plămânul, epididimul şi testiculul de şobolan prezintă o activitate a EC mult mai ridicată faţă de rinichi şi inimă şi dimpotrivă la om rinichiul, jejunul şi ileonul prezintă o activitate mai ridicată faţă de plămân şi testicul [570, 571].

Scanned with OKEN Scanner

Determinarea cantitativă a EC s-a putut realiza după obţinerea unor substraturi sintetice fluorogenice care îşi modifică intensitatea fluorescenţei după hidroliza de către EC. Această creştere a fluorescenţei oferă posibilitatea aprecierii cantitative a ratei procesului de hidroliză realizat de EC.

O altă metodă de evaluare cantitativă a EC utilizează radioinhibitori. Aceştia se leagă stoichiometric de situsul activ al EC tisulare sau plasmatice în funcţie de timp, concentraţie, pH şi de ionii de clor şi zinc. Inhibitorii respectivi leagă saturabil, reversibil şi dislocă EC de pe alţi inhibitori într-o manieră dependentă de doză.

Metoda de evaluare a EC bazată pe principiul utilizării radioinhibitorilor a fost descrisă prima dată de Tikkanen şi colab. utilizând un analog de "enalapril"–[^{125}I]351A derivat de p-hidroxibenzamidină al Lis–Pro. Proba este incubată cu o cantitate fixă de [^{125}I]351A şi EC legată de radioinhibitor liber prin tratament cu dextran T–70 în suspensie de cărbune. Se realizează o curbă standard de fixare a [^{125}I]351A pe EC ce serveşte pentru citirea rezultatului probelor analizate. Ulterior, s-au realizat numeroşi radioinhibitori, cum ar fi [^{3}H]captopril, [^{3}H]enalaprilat, [^{3}H]Ru44403 şi [^{3}H]ramiprilat.

1.5. ANGIOTENSINAZELE

Angiotensinele sunt active *in vivo* doar câteva secunde întrucât ele interacţionează cu un număr mare de enzime hidrolitice (figura 1.19.; tabelul 1.12.). Aceste enzime pot acţiona asupra Ang II, spre exemplu, la nivelul a cel puţin patru până la cele şapte legături peptidice [572, 573].

Cele mai multe studii au precizat că în sânge degradarea angiotensinelor este iniţiată de aminopeptidaze. Durata de acţiune a Ang II şi Ang III formate în urma activării SRA circulant este controlată de glutamil şi arginil–aminopeptidaze. Nu este exclus ca angiotensinele formate în parenchimul diverselor ţesuturi (inimă, suprarenală, uter, ţesut nervos etc.) să fie degradate de enzime diferite de cele care acţionează în sânge.

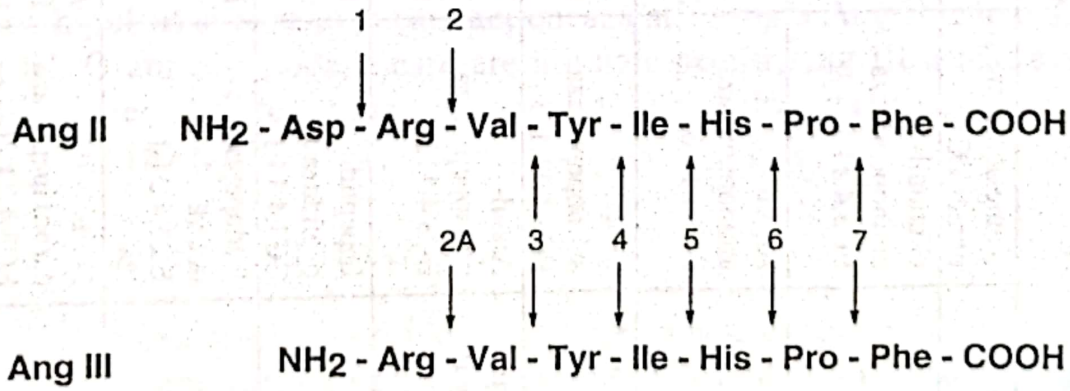


Figura 1.19. Secvenţele de aminoacizi ale Ang II şi Ang III. Numerele indică legăturile peptidice şi corespund celor prezente în prima coloană a tabelului 1.12. [522].

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 1.12. Schematizarea principalelor enzime care clivează Ang II şi Ang III. Numărul legăturilor din prima coloană se referă la cel din figura 1.19.

Ne. leg.	Nume acceptate şi număr EC	Alte denumiri	Alte substrate umorale	Inhibitori	Localizare tisulară (organ)	Localizare subcelulară
1.	Glutamil-aminopeptidaza EC3.4.11.7	Angiotensinaza A Aminopeptidaza acidă Aminopeptidaza A	Ocitocina	Amastatin Agenţi chelatori	Endoteliu Creier Rinichi	Membrana celulară Marginea în perie
2A în Ang III	Arginil-aminopeptidaza Ec3.4.11.6	Angiotensinaza B Aminopeptidaza bazică Aminopeptidaza B	Bradikinina	Bestatin	Ficat	Citosol
1 sau 2A	Leucil-aminopeptidaza EC3.4.11.1	Aminopeptidaza citozolică	-	Amastatin Bestatin	Placentă	Citosol
2A în Ang III	Alanil-aminopeptidaza EC3.4.11.2	Aminopetidaza M Aminopeptidaza microzomală	Kalidina Enkefalinele	Amastatin Bestatin o-fenantrolină	Muşchiul neted Endoteliu Rinichi	Membrana celulară Marginea în perie
2	Dipeptidil peptidaza I EC3.4.14.1	Catepsina C	Enkefalinele	Kelatorfan Cistatine	Ficat Splină	Lizosomi
4	Endopeptidaza neutră EC3.4.24.11	Enkefalinaza	Factor natriuretic atrial Bradikinină Enkefaline	Tiorfan	Rinichi	Membrana celulară
7	Polil-carboxipeptidaza EC3.4.21.26	Angiotensinaza C Enzima de clivare post-prolil Endo-oligo-peptidaza	Bradikinina	z-pro-prolinal Diizopropil Fluorofosfat	Rinichi Creier Vase sanguine	Citosol

Scanned with OKEN Scanner

1.5.1. AMINOPEPTIDAZELE

Angiotensina II cu acidul aspartic în poziția 1 este hidrolizată cel mai posibil de o aminopeptidază acidă numită „aminopeptidaza A" sau „angiotensinaza A". Ea este în fapt o glutamil aminopeptidază care acționează la nivelul segmentului amino–terminal, conține zinc și este inhibată cu ușurință de EDTA sau tranzitoriu de amastatin [574, 575].

Glutamil-aminopeptidaza a fost găsită în endoteliul vascular, rinichi, ficat, creier, suprarenală, eritrocite și plasma sanguină. La nivel subcelular ea se situează în fracția microsomală a omogenatelor celulare, iar la nivelul celulelor intacte este localizată în plasmalema acestora. Îndepărtând acidul aspartic din poziția 1 ea generează heptapeptidul (2-8) numit și Ang III.

Angiotensina III este și mai rapid hidrolizată decât Ang II mai întâi tot de o aminopeptidază numită "aminopeptidaza B" sau "angiotensinaza B" întrucât este o arginilaminopeptidază. Această enzimă se găsește în concentrație mare în citozolul hepatocitelor și este inhibată de bestatin [576]. Acțiunea este mult mai rapidă față de a aminopeptidazei A, de aceea Ang III are o durată de acțiune mult mai redusă.

Alte două aminopeptidaze, bine caracterizate, care pot acționa asupra angiotensinelor sunt leucil aminopeptidaza (LAP) și alanil aminopeptidaza.

Acestea au o rată de hidroliză mai redusă față de angiotensinazele A și B, se găsesc atât în citozol, cât și în membranele celulare și sunt inhibate de amastatin.

Numeroase alte aminopeptidaze care pot acționa asupra Ang II sunt susținute de unele cercetări. Între acestea dipeptidil peptidaza I sau catepsina C care clivează dipeptidul din nivelul grupării amino terminale a polipeptidelor care au al doilea acid aminat bazic. Angiotensina II poate interacționa cu aceasta generându-se hexapeptidul 3–8 însă Ang III nu este susceptibilă a interacționa. Această aminopeptidază este o cistein proteinază inhibată de grupările tiol și care a fost găsită în lizozomii din ficat și splină. Dipeptidil aminopeptidaza III este o altă enzimă citozolică pusă în evidență în glanda hipofiză și encefal și care acționează atât asupra Ang II, cât și asupra Ang III. O aminopeptidază care are afinitate pentru Ang III a fost evidențiată în creier. Aceste ultime aminopeptidaze hidrolizează și enkefalinele și endorfinele [577, 578, 579].

1.5.2. ENDOPEPTIDAZELE

Angiotensinele pot fi hidrolizate și de unele endopeptidaze cum ar fi tripsina și chimotripsina care au acces la angiotensine în circulație sau în diferite organe cu excepția intestinului [580]. Aceste enzime au rolul de a

Scanned with OKEN Scanner

limita durata de acţiune a angiotensinelor, sunt neutre şi intervin şi asupra enkefalinelor şi probabil şi asupra peptidelor natriuretice.

Endopeptidazele neutre sunt metaloproteine, conţin zinc, transformă Ang II în două tetrapeptide şi sunt inhibate de compuşi care conţin grupări tiol. Se găsesc în rinichi, creier şi intestin, iar la nivel subcelular se situează în fracţia microsomală a omogenatelor tisulare.

1.5.3. CARBOXIPEPTIDAZELE

Din acest grup fac parte enzime care acţionează după aminoacidul prolină şi au fost denumite generic "angiotensinaze C". Sub acţiunea lor Ang II se transformă în Ang 1–7. Ferrario şi colab. cred că acest heptapeptid se leagă de receptori specifici şi exercită acţiuni caracteristice la nivelul sistemului nervos central [581].

Carboxipeptidaza este considerată astfel ca şi aminopeptidaza A o enzimă de transformare "transforming enzyme" care transformă o Ang activă în peptide mai mici cu alt spectru de acţiune.

Prolilcarboxipeptidaza se evidenţiază în rinichi, creier şi vasele sanguine şi anume la nivelul citozolului celulelor din structurile respective. Ea este o serinprotează şi este inhibată de substanţe organofosforice şi de analogi specifici ai prolinei.

Activitate prolilcarboxipeptidazică s-a atribuit şi altei enzime denumită „carboxipeptidaza P" prezentă în platoul celulelor intestinale şi care se pare că seamănă din punct de vedere al activităţii enzimatice cu postprolildecarboxilaza [582].

1.5.4. ALTE POSIBILITĂŢI DE METABOLIZARE A ANGIOTENSINELOR

Angiotensinele pot fi rapid fosforilate *in vitro* sub acţiunea unor tirozinkinaze sau insulinkinazei asociate cu receptorul acestui peptid [583, 584]. Nu este exclus ca o astfel de reacţie să se petreacă şi *in vivo*.

Studiile realizate în domeniul transducţiei semnalului angiotensinic la nivel celular (glanda corticosuprarenală, musculatură netedă) au scos în evidenţă faptul că una dintre etape este reprezentată de fosforilarea proteinkinazei C. În momentul activării celulare de către angiotensine protein kinaza C migrează în membrana celulară.

Altă cale metabolică a angiotensinelor implică hidroxilarea tirozinei cu formarea dihidroxifenilalaninei. Deşi nu există date experimentale care să prezinte astfel de evenimente nu este exclus ca ele să se petreacă la nive-

Scanned with OKEN Scanner

lul glandei medulosuprarenale şi a sistemului nervos simpatic, unde sinteza catecolaminelor se realizează după hidroxilarea tirozinei şi unde se găsesc receptori angiotensinergici.

1.6. REGLAREA METABOLISMULUI ANGIOTENSINELOR

Posibilităţile de interacţiune între angiotensine şi enzimele hidrolitice sunt controlate prin limitarea accesului acestor enzime la peptidele respective. Accesul enzimelor hidrolitice la peptidele angiotensinice este evident la suprafaţa luminală a tubilor uriniferi şi a endoteliului capilarelor sanguine.

Lizozomii conţin multe enzime capabile să degradeze angiotensinele. Accesul acestor enzime la angiotensine este posibil datorită faptului că după fixarea lor pe receptorii specifici complexul hormon–receptor se poate internaliza [585]. Cunoştinţele în acest domeniu sunt încă insuficiente pentru a putea interpreta dacă şi cât din angiotensinele circulante pot fi metabolizate intracelular.

Altă posibilitate de control al activităţii angiotensinelor se realizează în parte prin inhibitorii endogeni. Deosebit de interesantă în acest sens este părerea grupului condus de Chipens care a arătat că fragmentele angiotensinice mici reprezintă inhibitori ai degradării Ang II [586]. Ang III şi enkefalinele pot intra în competiţie pentru situsul catalitic al aminopeptidazelor [587]. Şi, în sfârşit, inhibitorii macromoleculari ai proteazelor reprezintă factori deosebit de importanţi în reglarea duratei de acţiune a angiotensinelor [588, 589].

Bibliografie:

1. Page I.H., Helmer O.M. Journal of Experimental Medicine 1940; 71: 29–42.
2. Braun–Menendez E., Fasciolo J.C., Leloir L.F., Munoz J.M. Journal of Physiology 1940; 98: 283–98.
3. Inagami T., Misono K., Michelakis A.M. Biochemical and Biophysical Research Communication 1974; 56: 503–9.
4. McKown M.M., Gregerman R.I. Life Sciences 1975; 16: 71–9.
5. Misono K., Inagami T. Biochemistry 1980; 19: 2616–22.
6. Misono K.S., Halladay L.A., Murakami K., Kuromizu K., Inagami T. Archives of Biochemistry and Biophysics 1982; 217: 574–81.
7. Corvol P., Panthier J.J., Foote S., Rougeon F. Hypertension 1983; 5 (supp I): I3–9.
8. Panthier J.J., Foote B., Chambrand B., Strosberg A.D., Corvol P., Rougeon F. Nature 1982; 298: 90–2.

Scanned with OKEN Scanner

9. Imai T., Miyazaki H., Hirose S., Hori H., Hayashi T., Kageyama R., Ohkubo H., Nakanishi S., Murakami K. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 1983; 80: 7405–9.
10. Hobart P.M., Fogliano M., O'Connor B.A., Schaffer I.M., Chirgwin J.M. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 1984; 83: 5026–30.
11. Burnham C.E., Hawellu–Johnson C.L., Frank B.M., Lynch K.R. Proceedings of National Academy of Sciences of the USA 1987; 84: 5605–9.
12. Barajas L. American Journal of Physiology 1979; 237:F333–43.
13. Taugner R., Bührle C.P., Hackenthal E., Mannek E., Nobiling R. Contributions to Nephrology 1984; 43: 76–101.
14. Taugner R., Hackenthal E., Inagami T., Nobiling R., Poulsen K. Histochemistry 1982; 75: 473–84.
15. Taugner R., Hackenthal E. The juxtaglomerular apparatus. Berlin, Heidelberg, New York: Springer–Verlag, 1989.
16. Berka J.L., Alcorn D., Coghlan J.P., Fernley R.T., Morgan T.O., Ryan G.B., Skinner S.L., Weaver D.A. Journal of Hypertension 1990; 8: 229–38
17. Gomez R.A., Chevalier R.L., Everett A.D., Elwood J., Peach M.J., Lynch K.R., Carey R.M. American Journal of Physiology 1990; 259: F 660–5.
18. Biava C.G., West M. American Journal of Pathology 1966; 49: 955–79.
19. Cumin F., Le-Nguyen D., Castro B., Menard J., Corvol P. Biochimica et Biophysica Acta 1987; 913: 10–9.
20. Brachtel D., Wernze H. Clinical Physiology and Biochemistry, 1988; 6: 95–105
21. Hollenberg N.K., Williams G.H., Burger B., Chenitz W., Hossmand I., Adams D.F. Circulation Research 1976; 38: 35–40.
22. Jaramillo H., Sabhi M., Bouhnik J., Corvol P., Menard J. Endocrinology 1987; 120: 1384–90.
23. Schelling P., Muller J., Clauser E. American Journal of Physiology 1983; 244: R466–71.
24. Umezawa H., Aoyagi T., Morishima H., Marsusaki M., Hamada M., Takeuchi T. Journal of antibiotics 1970; 23: 259–62.
25. Szelke M., Leckie B., Hallet A., Johnes D.M., Sueiras J., Atrash B., Lever A.F. Nature 1982; 299: 555–7
26. Dorer F.E., Levine M., Skeggs L.T., Lentz K.E., Kahn J.R. Hypertension 1984; 6: 374–82.
27. Fritz L.C., Arfsten A.E., Dzau V.J., Atlas S.A., Fiddes J.C., Shine J., Cofer C.L., Kushner P., Ponte P.A. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 1986; 83: 4114–8.
28. Poorman R.A., Palermo D.P., Post L.E., Murakami K., Kinner J.H., Smith C.W., Reardon I., Heinrikson R.L. Proteins: Structure, Function and Genetics 1986; 1: 139–45.
29. Sielecki A.R., Hayakawa K., Fujinaga M., Murphy M.E.P., Fraser M., Muir A.K., Carilli C.T., Lewicki J.A., Baxter J.D., James M.N.G. Science 1989; 243: 1346–51.
30. Yokosawa H., Holladay L.A., Inahgami T., Hass E., Murakami K. Human renal renin: Journal of Biological Chemistry 1980; 255: 3498–3502.
31. Skeggs L.T., Lentz K.E., Kahn J.R. and Hochstrasser H. Journal of Experimental Medicine 1968; 128: 13–34.
32. Misono K.S., Chang J.J., Inagami T. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 1982; 79: 4858–62.
33. Misono K.S., Inagami T. Journal of Biology Chemistry 1982; 257: 7536–40.

Scanned with OKEN Scanner

247. Richards AM, McDonald D, Fitzpatrick MA, Nicholls MG, Espiner EA, Ikram H, Jans S, Grant S, Yandle T. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1988; 67, 1134–9
248. Waldhausl W, Vierhapper H, Nowotny P. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1986; 62, 956–9
249. Tokkanen I, Fyhrquist F, Metsarinne K, Leidenius R. Lancet 1985; ii: 66–9
250. Cody RJ, Atlas SA, Laragh JH, Kubo SH, Covit AB, Ryman KS, Shaknovich A, Pondolfino K, Clark M, Camargo MJF, Scarborough RM. Journal of Clinical Investigation 1986; 78, 1362–74
251. McMurray JJ, Struthers AD. Hypertension 1989; 13, 9–14.
252. McMurray JJ, McFarlane L, Coutie WJ, Balfour D, Struthers AD. Journal of Cardiovascular Pharmacology 1989; 14, 326–30
253. Lang CC, McMurray JJ, Balfour DJK, Struthers AD. (Abstract) British Journal of Clinical Pharmacology 1989; 28, 219P.
254. Richards AM, Espiner EA, Ikram H, Yandle TG. Hypertension 1989; 14, 261–8
255. Lee ME, Miller WL, Edwards BS, Burnett JC. Journal of Clinical Investigation 1989; 84, 1962–6
256. Riegger AJG. European Heart Journal 1990; 11 (suppl B), 79–83
257. Riegger AJG, Elsner D, Kromer EP, Daffner C, Forssmann WG, Muders F, Pascher EW, Kochsiek K. Circulation 1988; 77, 398–406
258. Burnett JC, Granger JP, Opgenorth TJ. American Journal of Physiology 1984; 247, F863–6
259. Opgenorth TJ, Burnett JC, Granger JP, Scriven TA. American Journal of Physiology 1986; 250, F798–801
260. Kurtz A, Della Bruna R, Pfeilschifter J, Taugner R, Bauer C. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA 1986b, 83, 4769-73
261. Kageyama S, Brown J. Biochemical and Biophysical Research Communications 1990; 168, 37–42
262. Scheuer DA, Thrasher TN, Keil LC, Quillen EW, Metzler CH, Ramsay DJ. American Journal of Physiology 1987; 251, R423–7
263. Scheuer DA, Thrasher TN, Keil LC, Ramsay DJ. American Journal of Physiology 1989; 257, R194–203
264. Vidal MJ, Romero JC, Vanhoutte PM. European Journal of Pharmacology 1988; 149, 401–2
265. Beierwalters WH. American Journal of Physiology 1988; 258, F1363–71
266. Henrich WL, McAllister EA, Smith PB, Campbell WB. American Journal of Physiology 1988; 255, F474–8
267. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Pharmacological Reviews 1991; 43, 109–42
268. Chiu T, Reid IA. J Pharmacol Exp Ther 1996; 278, 793–799
269. Knoblich PR, Freeman RH, Villareal D. Hypertension 1996; 28, 738–742
270. Persson PB, Baumann JE, Ehmke H, Hackenthal E, Kirchheim HR, Nafz B. Am J Physiol 1993; 264, F943–F947
271. Schricker K, Hegyi I, Hamann M, Kaissling B, Kurtz A. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92, 8006–8010
272. Gardez J, Gonzalez MF, Alhene–Gelas F, Menard J. Am J Physiol 1994; 267, F798–F 804
273. Scholz H, Kurtz A. J Clin Invest 1993; 91, 1088–1094
274. Hackenthal E, Munter K, Fritsch S. Endothelium 1994; 2, 229–237
275. Kurtz A, Gotz KH, Hamann M, Kieninger M, Wagner C. Am J Physiol 1998;

Scanned with OKEN Scanner

2. SISTEMUL RENINĂ-ANGIOTENSINĂ CIRCULANT

Analiza sistemului renină-angiotensină descoperă multiplele fațete de interes fiziologic, fiziopatologic și farmacologic ale acestuia și în același timp reliefează faptul că reprezintă o componentă majoră a cercetării științifice biomedicale.

Fiziologia sistemului renină-angiotensină implică interrelații între elemente de fiziologie renală (controlul hemodinamicii renale și a excreției de sodiu), fiziologie cardiovasculară (reglarea presiunii sanguine), fiziologie endocrină (secreția de aldosteron, ADH, adrenalină etc.), neurofiziologie etc. În acest mod fiziologia sistemului renină-angiotensină integrează majoritatea ariilor funcționale ale organismului oferind înțelegerea cooperării lor în realizarea unității sale.

Renina a apărut devreme în „evoluția filogenetică" a speciilor însă este foarte dificil să se precizeze sincronismul între momentul apariției sistemului cu acțiunile sale hormonale. În acest sens o trecere succintă în revistă a evoluției filogenetice, dublată de câteva aspecte de fiziologie comparată a sistemului renină-angiotensină nu numai că ar întregi tabloul rolului acestui sistem în economia funcțională a organismului, ci ar scoate în relief și necesitatea sa pentru buna funcționare a acestuia.

2.1. ASPECTE ALE EVOLUȚIEI FILOGENETICE A SISTEMULUI RENINĂ-ANGIOTENSINĂ

În termeni de fiziologie comparată, sistemul renină – angiotensină a fost interpretat (cu mici excepții) ca fiind necesar pentru menținerea homeostaziei volemice și cardiovasculare încă de la nevertebrate. Evoluția filogenetică este urmărită de acțiunile Ang asupra comportamentului dipsic și/sau a funcției renale întrucât reprezintă o reflectare a condițiilor de viață pe care speciile le-au avut în istoria dezvoltării lor.

În acest sens este interesantă comparația între mamifere, care prezintă o homeostazie hidroelectrolitică stabilă și vertebratele inferioare care în migrația lor din apa de mare și apa dulce pe pământ reclamă dezvoltarea unor mecanisme reglatoare de tipul SRA. Organismele care trăiesc în apa mărilor prezintă o puternică încărcare sodată cu amenințarea unei intense deshidratări, în timp ce organismele din apele curgătoare sunt amenințate cu hiperhidratarea și depleția de clorură de sodiu. Cu alte

Scanned with OKEN Scanner

cuvinte, mecanismele diuretic şi antidiuretic primează la organismele care trăiesc în apă curgătoare, în timp ce procesele natriuretice şi antidiuretice reprezintă adaptări fiziologice la organismele marine. În acest context rinichiul celor mai multe specii până la mamifere nu are dezvoltat mecanismul de autoreglare a procesului de filtrare glomerulară, acesta, ca de altfel şi fluxul sanguin renal la speciile respective, depinzând în mod direct de valoarea debitului cardiac şi a presiunii arteriale sistemice. Observaţiile respective subliniază odată în plus faptul că dezvoltarea SRA este legată de instalarea şi stabilizarea mecanismului de feedback tubulo-glomerular.

Modificarea rinichiului vertebratelor la condiţiile de perfuzie şi presiune dau posibilitate de funcţionare mecanismului de concentrare şi diluţie a urinei şi de reglare a ratei de filtrare glomerulară în care SRA reprezintă unul dintre primii mediatori ai funcţiei renale (figura 2.1.).

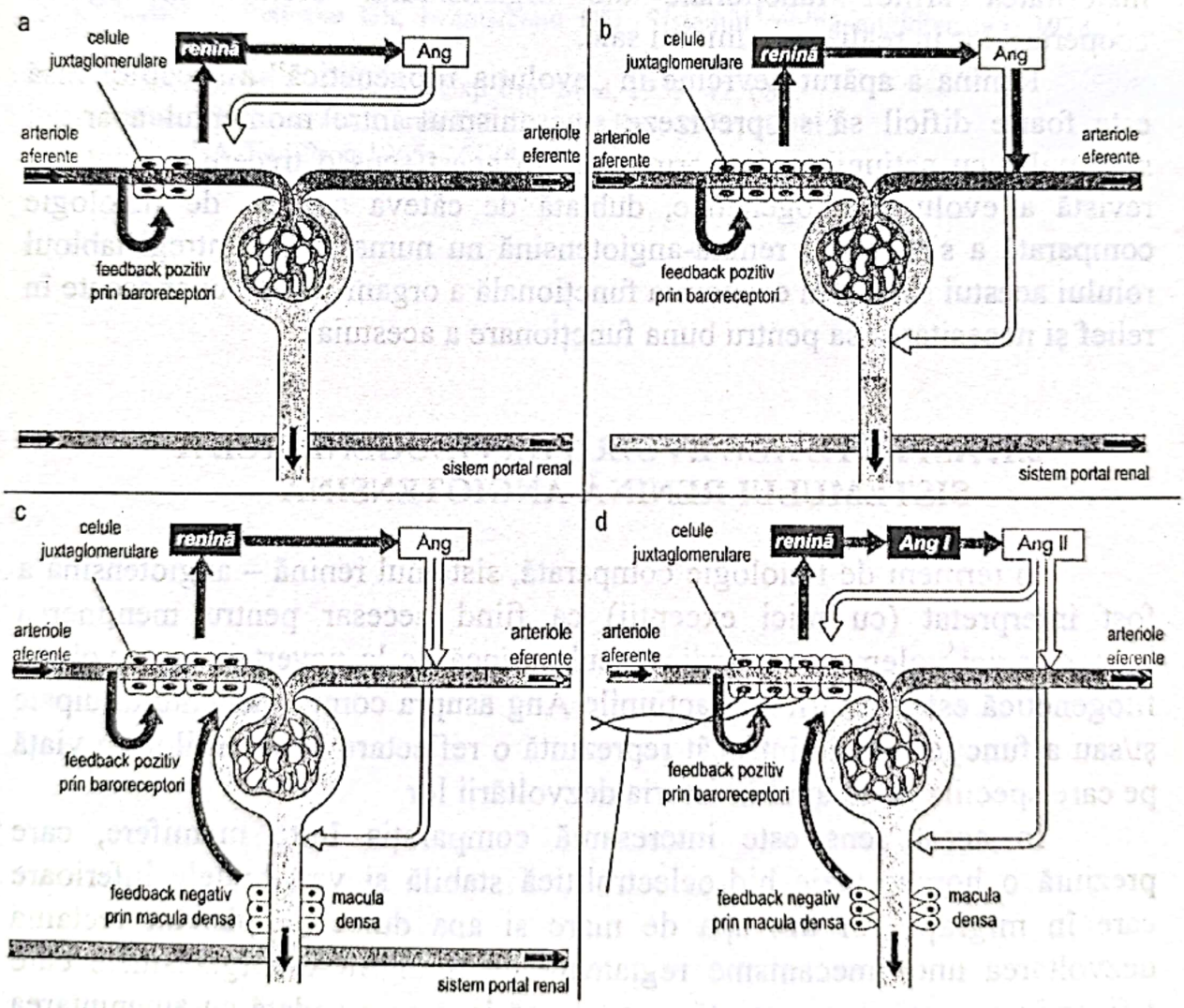


Figura 2.1. Evoluţia filogenetică a acţiunilor intrarenale ale sistemului renină–angiotensină (a=peşti; b=amfibieni; c=păsări; d=mamifere) [modificat după 7].

Scanned with OKEN Scanner

Fiecare grup de vertebrate trebuie astfel analizat separat în funcție de: prezența parțială sau a tuturor componentelor aparatului juxtaglomerular; acțiunile farmacologice ale reninei sau angiotensinelor, posibilele interrelații între acțiunile fiziologice ale SRA și alți hormoni sau sisteme funcționale etc.

La vertebratele inferioare sunt puține date legate de existența reninei extrarenale, de aceea mențiunile sunt mai mult speculative și în ceea ce privește filogenia și fiziologia reninei extrarenale.

Evoluția nefronilor realizează aparatul juxtaglomerular doar la mamifere, astfel încât celulele secretoare de renină sunt juxtaglomerulare doar la aceste specii (figura 2.2.).

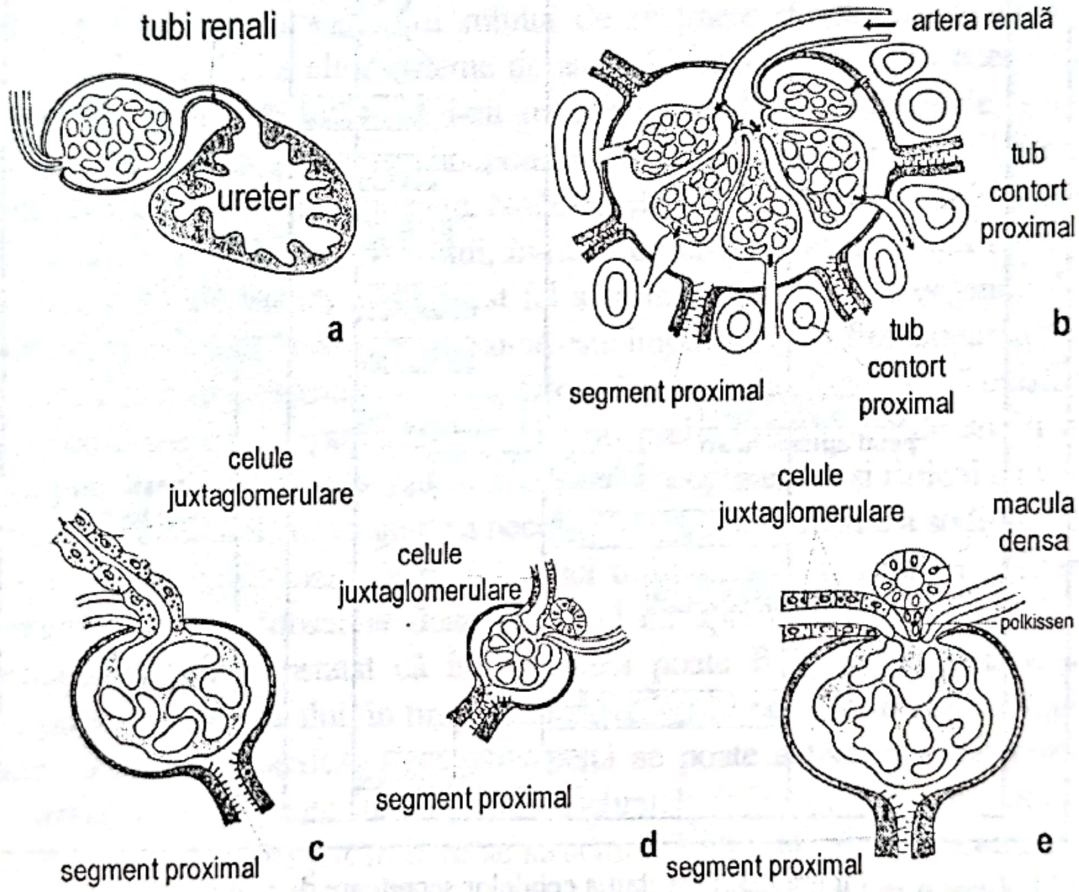


Figura 2.2. Evoluția interrelațiilor morfologice tubulo-glomerulare la vertebrate
= pești – a =*Paramyxine atami*; b = *Lampetra japonicus*;
= amfibieni – c = *Rana catesbeiana;*
= păsări – d = *Gallus domesticus;*
= rozătoare – e = *Rattus norvegicus*
[modificat după 7].

În rest, celule care secretă renină se află uneori departe de glomerul de-a lungul vaselor renale, situație evidentă în special la speciile aglomerulate (figura 2.3.). Din acest motiv unii cercetători preferă să

Scanned with OKEN Scanner

denumească celulele secretoare de renină cu termenul de „celule epitelioide granulare". De asemenea, observațiile privind prezența și rolul Ang III sau a altor metaboliți ai Ang I sunt limitate la speciile inferioare mamiferelor.

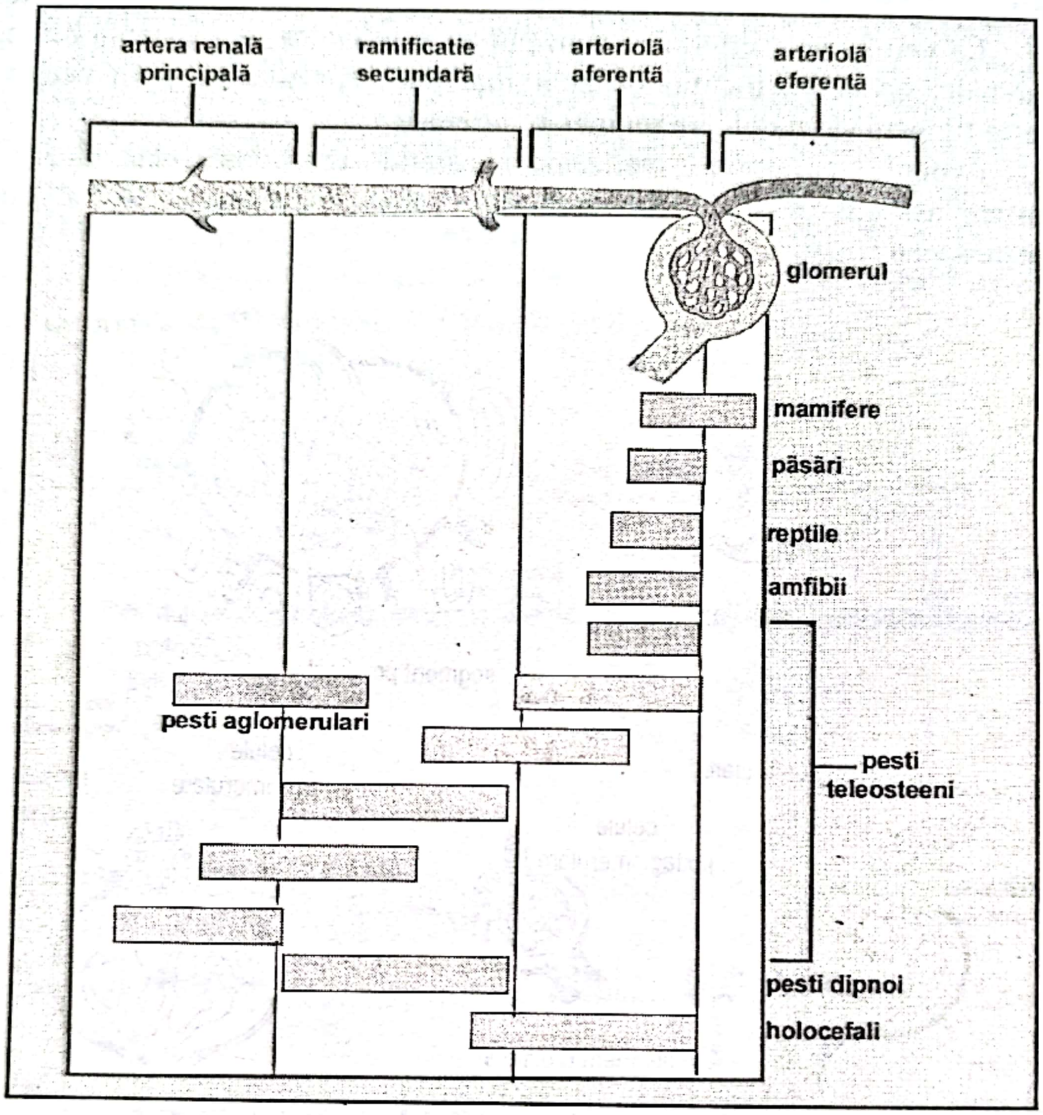


Figura 2.3. Distribuția celulelor secretoare de renină în rinichiul unor vertebrate [7].

Genele pentru Ang I sau mai exact pentru angiotensinogen sunt foarte bine conservate, ceea ce indică și o bună conservare a receptorilor la nivelul tuturor celulelor țintă.

Dacă ar fi să se urmărească necesitățile fiziologice care au reclamat apariția și evoluția SRA ar trebui să se precizeze că primul rol îndeplinit de acest sistem se referă la metabolismul sodiului *per se*, când s-au produs modificări profunde la trecerea de la viața marină la cea în apă dulce. De altfel, și din unghiul de vedere al reglării hidremice și volemice, evoluția filogenetică a SRA

Scanned with OKEN Scanner

trebuie privită în aceeaşi manieră deoarece este dificil să se precizeze acţiunile primare ale SRA în sens filogenetic. Oricare ar fi interpretarea, SRA trebuie privit în contextul factorilor hormonali care participă la procesul homeostatic, aşa încât apariţia sa reflectă necesitatea declanşării şi desfăşurării comportamentului dipsogen, a reţinerii (stimularea secreţiei de ADH – efect ce apare de la tetrapode) sau eliminării de apă şi a retenţiei (efectul antinatriuretic direct sau stimularea secreţiei de aldosteron) sau excreţiei (stimularea peptidelor natriuretice) de sodiu.

Evenimentul cel mai important în filogenia vertebratelor o reprezintă colonizarea uscatului. Pentru adaptarea la aceste noi condiţii de viaţă, la organismele respective s-au dezvoltat o serie de mecanisme ca urmare a acţiunii gravitaţiei, în sensul asigurării rolului de susţinere a scheletului, dezvoltarea sistemului vizual şi a altor sisteme de analiză a mediului etc. În aceste condiţii sistemului renină-angiotensină i-au revenit alte valenţe funcţionale, cum ar fi implicaţiile sale în economia funcţională a hemodinamicii, a funcţiilor renale, a unor glande endo- şi exocrine etc. Noile condiţii au creat probleme şi în legătură cu capitalul sodat al organismului, întrucât în anumite zone există un exces de sodiu, iar în altele deficit. În acest fel s-au diferenţiat şi alte organe, ale căror epitelii excretă sodiu astfel încât renina este implicată şi în funcţionarea acestora. Macula densa în plenitudinea sa morfologică şi mai ales funcţională există numai la speciile ale căror epitelii extrarenale nu prelucrează ionul de sodiu în mod corespunzător. Interrelaţiile dintre SRA, corticosuprarenală şi rinichi au apărut ca o cerinţă a evoluţiei convergente a necesităţilor de economisire a sodiului.

Surse extrarenale de renină, deci diferenţierea unor sisteme izorenină-angiotensină, s-au observat doar începând cu apariţia mamiferelor. În aceste circumstanţe s-a constatat că într-o celulă poate fi prezentă doar o singură componentă a sistemului, în timp ce la unele organisme într-o celulă se pot găsi toate componentele SRA şi în consecinţă se poate activa cascada enzimatică generatoare de angiotensine [1]. La vertebratele inferioare mamiferelor, renina extrarenală s-a evidenţiat în diverse structuri. Astfel, la peştii teleosteeni renina este prezentă în corpusculii Stanius [2,3], la broasca ţestoasă în gonade [3], iar la *rana pipiens* în piele şi inimă [4, 5, 6]. La peştele auriu s-au detectat câteva celule Ang II – reactive în nucleul supraoptic [7].

2.2. SEMNIFICAŢII ALE EVOLUŢIEI ONTOGENETICE A SRA

Parametrii hemodinamici suferă o evoluţie caracteristică după naştere în funcţie de specie. Astfel, spre exemplu, la şobolan presiunea arterială creşte postnatal, ca şi sensibilitatea reflexelor baroreceptoare.

Scanned with OKEN Scanner

În acest context s-a ivit întrebarea dacă sistemul renină-angiotensină este operant încă de la naştere. Primele cercetări au fost îndreptate asupra aparatului juxtaglomerular (AJG) întrucât la adult renina se găseşte atât sub formă de granule, cât şi ca material agranular.

Ontogenia AJG la şobolan trece prin următoarele etape:

– în jurul celei de-a 18-a zi de viaţă intrauterină, arteriolele aferente prezintă un strat periendotelial de celule epitelioide nediferenţiate care este separat de stratul endotelial printr-o membrană bazală. Citoplasma celulelor epitelioide conţine toate organitele ce imprimă caracterul secretor al acestor celule, însă numai ocazional pot prezenta granule secretorii, în timp ce granulele de glicogen sunt bogat reprezentate;

– după a 20-a zi de gestaţie AJG este constituit, iar arteriolele aferente sunt acoperite de un singur strat de celule epitelioide turtite. În aceste celule aparatul Golgi şi reticulul endoplasmic rugos sunt clar diferenţiate, iar citoplasma conţine numeroase incluziuni lizozom–like;

– înaintea naşterii, granulele juxtaglomerulare se întâlnesc foarte rar;

– după naştere, aparatul Golgi este mult proliferat; în citoplasmă se găsesc granule secretorii sub diferite forme, iar cantitatea de glicogen este redusă. Existenţa unor filamente fine intracitoplasmatice pare să sugereze diferenţierea lor din miocitele netede;

– între a 4-a şi a 8-a zi după naştere, doar în zona subcapsulară se găsesc arteriole aferente nediferenţiate, în rest se întâlnesc toate treptele de dezvoltare a vaselor aferente cu o mai completă reprezentare în regiunea juxtaglomerulară a rinichiului;

– după a 8-a zi postpartum majoritatea AJG au macula densa şi lacis, iar celulele mioepiteliale preglomerulare conţin granulaţii.

Sunt interesante datele publicate de Bruhl şi colab. [8], care prezintă comparativ evoluţia stadială morfologică a AJG şi conţinutul în activitate reninică atât la mamă, cât şi la produsul de concepţie (tabelul 2.1.).

Se observă că între a 18-a zi şi a 20-zi de viaţă intrauterină activitatea reninei renale scade (probabil datorită creşterii intense în greutate a rinichiului), în timp ce conţinutul în renină rămâne constant.

Trebuie remarcat, de asemenea, şi conţinutul destul de ridicat al activităţii renin-like al omogenatului de foetus binefrectomizat, ceea ce atrage atenţia că şi în acest stadiu de dezvoltare, şobolanul este dotat cu surse extrarenale de renină.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 2.1. Activitatea reninică ontogenetică la şobolan [8]

		Gestaţie		Naştere	Post partum		
		a 18-a zi	a 20-zi		30–60 min.	I-a zi	a II-a zi
Mama	Rinichi Plasmă	437 ng/g 34 ng/g	327 ng/g 152 mg/ml		457 ng/g 60 ng/ml	626 ng/g 54 ng/ml	449 ng/g 44 ng/ml
Produs de concepţie	Omogenat renal Embrion Greutatea rinichiului Renina granulară % din totalul reninei Greutatea animalului	143 ng/g 773 ng/2 2 rinichi 5,4 mg % 1,82 g	47 ng/g 749 ng/2 2 rinichi 16 mg 12,5% 1,85 g		251 ng/g 10,7 ng/2 2 rinichi 37 mg 14,7 5,10 g	222 ng/g 15,8 ng/2 2 rinichi 71 mg 46,9 % 5,10 g	167 ng/g 18,9 ng/2 2 rinichi 110 mg 51,4% 7,20 g

Scanned with OKEN Scanner

Studii imunocitochimice au evidenţiat celule care sintetizează renină doar din a 15-a zi de gestaţie la nivelul arterelor din rinichi şi din peretele mezonefrosului gonadic [9]. Concomitent cu evoluţia ontogenetică a celulelor conţinătoare de renină s-a pus în evidenţă şi Ang II în citoplasma acestora, sugerându-se biosinteza intracelulară a peptidului.

Enzima de conversie (EC) a Ang I în Ang II se găseşte atât în celulele tubulare proximale, cât şi în celulele endoteliului capilarelor glomerulare, încă de la începutul diferenţierii nefronilor. Această constatare a îndrumat spre supoziţia că EC ar fi implicată atât în dezvoltarea funcţiilor nefronului, cât şi în hemodinamica renală [10].

Interesante sunt şi datele privind evoluţia ontogenetică a conţinutului în renină a diferitelor structuri cerebrale (cortex parieto-frontal, hipotalamus, glanda epifiză) în comparaţie cu activitatea reninei plasmatice (tabelul 2.2.). Astfel, la nivelul cortexului cerebral şi al hipotalamusului se înregistrează o tendinţă de creştere a activităţii reninice în primele două săptămâni de viaţă postnatală (p.n.), urmată de o scădere gradată până la sfârşitul primei luni de viaţă p.n. când se atinge nivelul de la şobolanul adult.

Tabelul 2.2 Activitatea renin-like (ng Ang II/g ţesut/h) în diferite structuri cerebrale şi în plasma sanguină

	Zilele post natale					
	Foetus	1-a zi	14-a zi	21-a zi	30-a zi	Adult
Cortex cerebral	4,82 ±1,73	5,35 ± 2,07	23,7 ± 5,2	21,5 ± 4,8	17,93 ± 5,7	17,0 ± 5,0
Hipotalamus	25,3 ± 4,3	20,2 ± 5,1	34,4 ± 3,9	25,05 ± 4,07	16,3 ± 3,42	15,7 ± 3,42
Epifiză	20,3 ± 1,9	21,9 ± 2,1	19,5 ± 2,3	12,2 ± 1,7	87,3 ± 1,1	73,2 ± 15
Plasma sanguină	3,6 ± 0,5	3,2 ± 0,9	2,09 ± 0,5	1,9 ± 0,5	2,15 ± 0,4	1,7 ± 0,3

Evoluţia ontogenetică a activităţii renin-like în glanda epifiză îmbracă aspecte cu totul particulare. În primul rând, valorile găsite la foetuşi şi noi-născuţi le depăşesc pe cele ale adultului de aproximativ 3 ori. Acest nivel ridicat al activităţii renin-like se menţine până la a doua săptămână de viaţă p.n., când şobolanii deschid ochii. Între a 12-a şi a 21-a zi de viaţă p.n. se înregistrează o scădere brutală, pentru ca apoi scăderea activităţii renin-like să fie progresivă spre valorile întâlnite la adult [11].

O altă constatare scoate în evidenţă o variaţie nictemerală particulară a conţinutului în activitate renin-like la nivel epifizar, care îmbracă o imagine în oglindă în perioada dinaintea deschiderii ochilor faţă de cea ulterioară deschiderii ochilor (figura 2.4.).

Scanned with OKEN Scanner

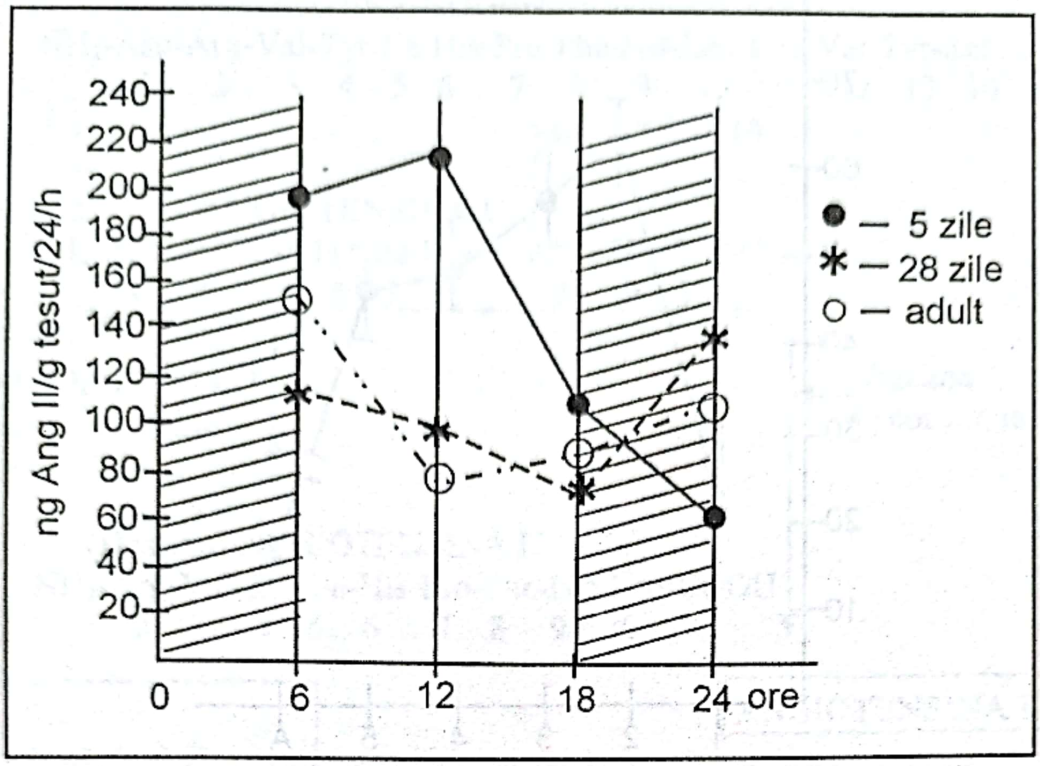


Figura 2.4. Variațiile nictemerale ale activității renin -like din glanda epifiză în cursul evoluției ontogenetice la șobolan.

Faptul că activitatea izoreninei cerebrale este net diferită de cea plasmatică şi evoluţia lor ontogenetică este diferită a constituit o tentație pentru urmărirea şi aprecierea conținutului în enzimă de conversie a Ang I în Ang II în aceleaşi circumstanțe.

Conținutul în enzimă de conversie atât a plasmei sanguine, cât şi a scoarței cerebrale, hipotalamusului şi glandei hipofize nu prezintă variații semnificative în cursul evoluției ontogenetice. În schimb, trunchiul cerebral conține cantități progresiv mai reduse în cursul maturării, astfel încât la şobolanii adulți enzima de conversie se găseşte la o valoare de 2-3 ori mai mică decât la un nou-născut. La nivelul glandei epifize, conținutul în enzimă de conversie se triplează după a doua săptămână de viață extrauterină, față de cel găsit la nou-născut. Acest nivel ridicat se menține încă 2-3 săptămâni pentru ca apoi conținutul în enzimă de conversie să scadă progresiv, astfel încât epifiza şobolanului adult are un conținut mult mai redus față de cea a noului-născut (figura 2.5.).

În ceea ce priveşte evoluția ontogenetică a receptorilor pentru Ang II la nivel cerebral s-a observat o relație structură – funcție în omogenatele de creier de rață [12].

Angiotensina II atât cea circulantă, cât şi cea centrală, are un rol important în procesul de stabilizare a presiunii arteriale şi a sensibilității baroreflexe în cursul evoluției ontogenetice [13].

Scanned with OKEN Scanner

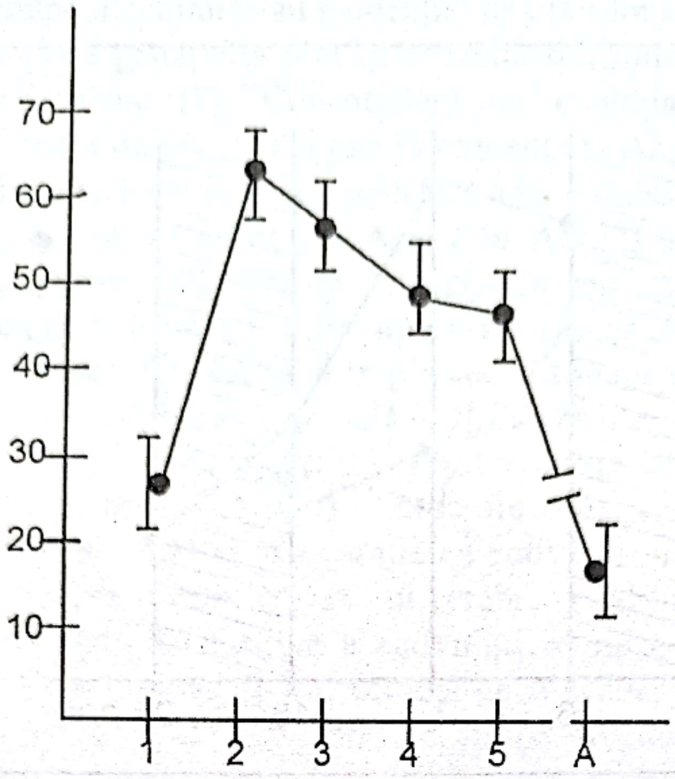


Figura 2.5. Variațiile concentrației enzimei de conversie a Ang I în Ang II din glanda epifiză în cursul evoluției ontogenetice la șobolan (Pt = conținut în proteine totale).

Inițial, SRA a fost considerat ca un sistem endocrin conceput pentru explicarea implicațiilor funcționale ale Ang II circulante generată în urma interacțiunii între renină și substratul său în plasma sanguină [14, 15]. Acest concept poate fi rezumat astfel: renina eliberată de către rinichi acționează asupra angiotensinogenului circulant generând Ang I. Prin traversarea circulației pulmonare Ang I este convertită în Ang II, care prin intermediul circulației arteriale sistemice ajunge la nivelul tuturor țesuturilor și își manifestă acțiunile prin intermediul receptorilor specifici. Primele studii legate de concentrația Ang II și a metaboliților săi au scos în evidență că în sângele venos se regăsește doar 34 % din Ang II prezentă în sângele arterial, sugerându-se astfel că 66 % din Ang II arterială ar fi degradată în timpul unui singur pasaj prin vascularizația periferică [15] (figura 2.6.).

Studii ulterioare nu au confirmat existența unei diferențe atât de frapante între nivelul Ang II din sângele venos față de cel arterial, ci dimpotrivă, că în cele două sectoare concentrațiile sunt similare ceea ce a dus la revizuirea conceptului clasic asupra SRA [16, 17, 18]. Lipsa gradientului arteriolo-venos al Ang II a fost interpretată ca fiind rezultatul echilibrului dinamic între generarea periferică (plasmatică și tisulară) a peptidului și metabolismului ei [19, 20]. Metabolizarea Ang din sângele arterial la nivelul țesuturilor ar fi contrabalansată de generarea *de novo* în cantități echivalente.

Scanned with OKEN Scanner

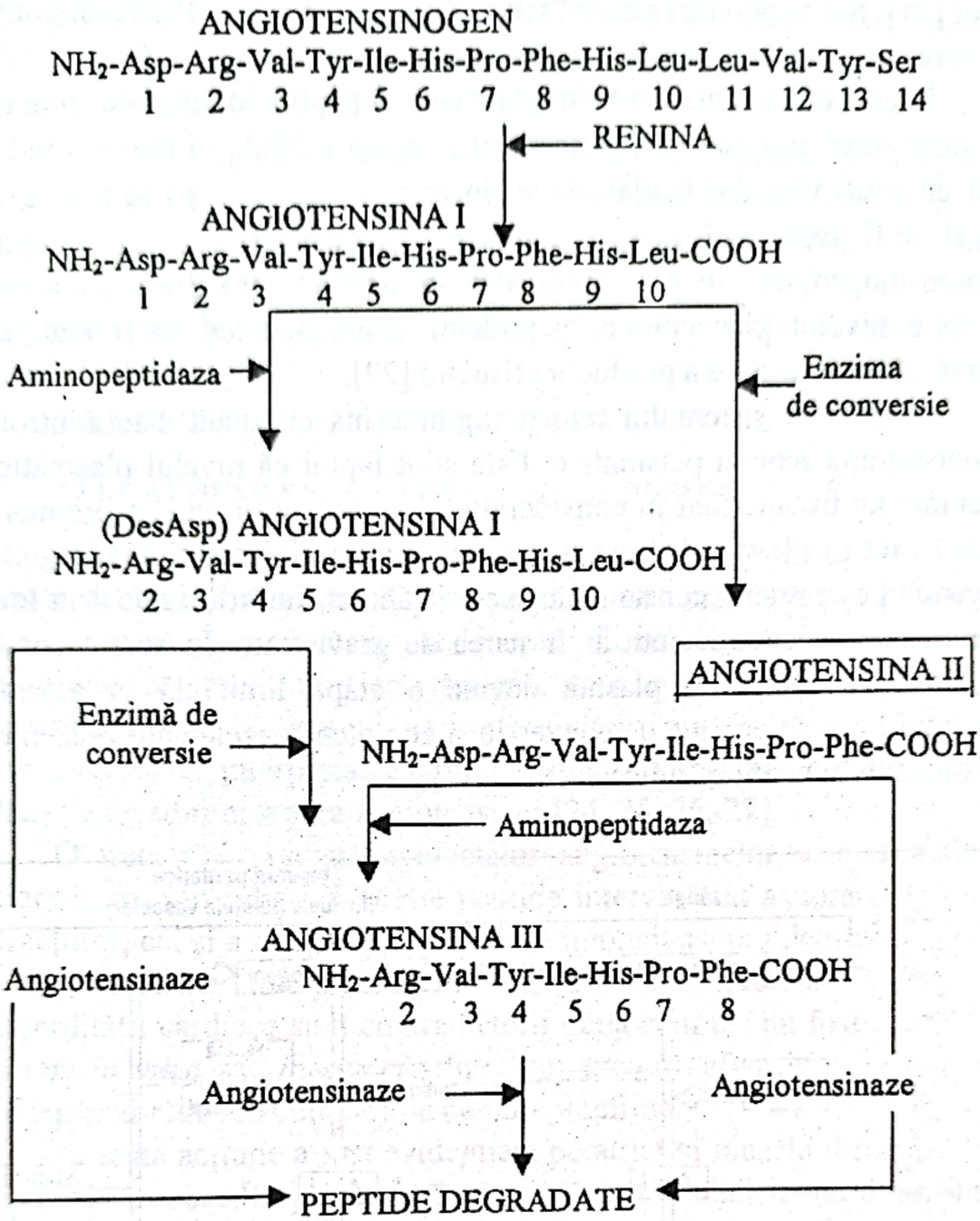


Figura 2.6. Cascada reacțiilor enzimatice generatoare de angiotensine circulante [modificat după 15].

În ceea ce privește conversia Ang I, Fei și colab. [19] au demonstrat că în sângele arterial 55 % din Ang I este transformată în Ang II, în timp ce în sângele venos până la 73 %.

Posibilitatea generării peptidelor angiotensinice nu numai în sânge a ridicat numeroase întrebări legate de locul și mecanismul de producere a acestora. Unii cercetători au demosntrat că renina vasculară reprezintă renina renală sechestrată la acest nivel și care prezintă un turnover foarte

Scanned with OKEN Scanner

scăzut [21]. S-a sugerat că țesutul vascular ar reține renina, întrucât conține o proteină care o poate lega [22].

În concepția actuală nivelul plasmatic al peptidelor angiotensinice nu ar fi doar rezultatul activării în torentul sanguin a SRA, ci mai curând cel oferit de patul vascular tisular, astfel încât cea mai mare parte a Ang I și Ang II ar fi generată local sub acțiunea reninei de origine renală asupra angiotensinogenului sintetizat mai ales în ficat (figura 2.7.). În această concepție nivelul plasmatic al peptidelor angiotensinice ar fi rezultatul deversării lor ca urmare a producției tisulare [22].

Activitatea sistemului renină-angiotensină circulant este controlată de concentrația reninei plasmatice. Este știut faptul că nivelul plasmatic al proreninei nu trebuie luat în considerație în acest caz întrucât prorenina nu este activată în plasmă. De asemenea, concentrația plasmatică a angiotensinogenului este relativ constantă la același subiect, variațiile sale sunt foarte lente chiar și în situații cum ar fi starea de graviditate. În aceste condiții concentrația reninei din plasmă devine o etapă limitantă în activarea sistemului întrucât enzima de conversie și angiotensinazele sunt prezente în mod obișnuit în cantități ridicate.

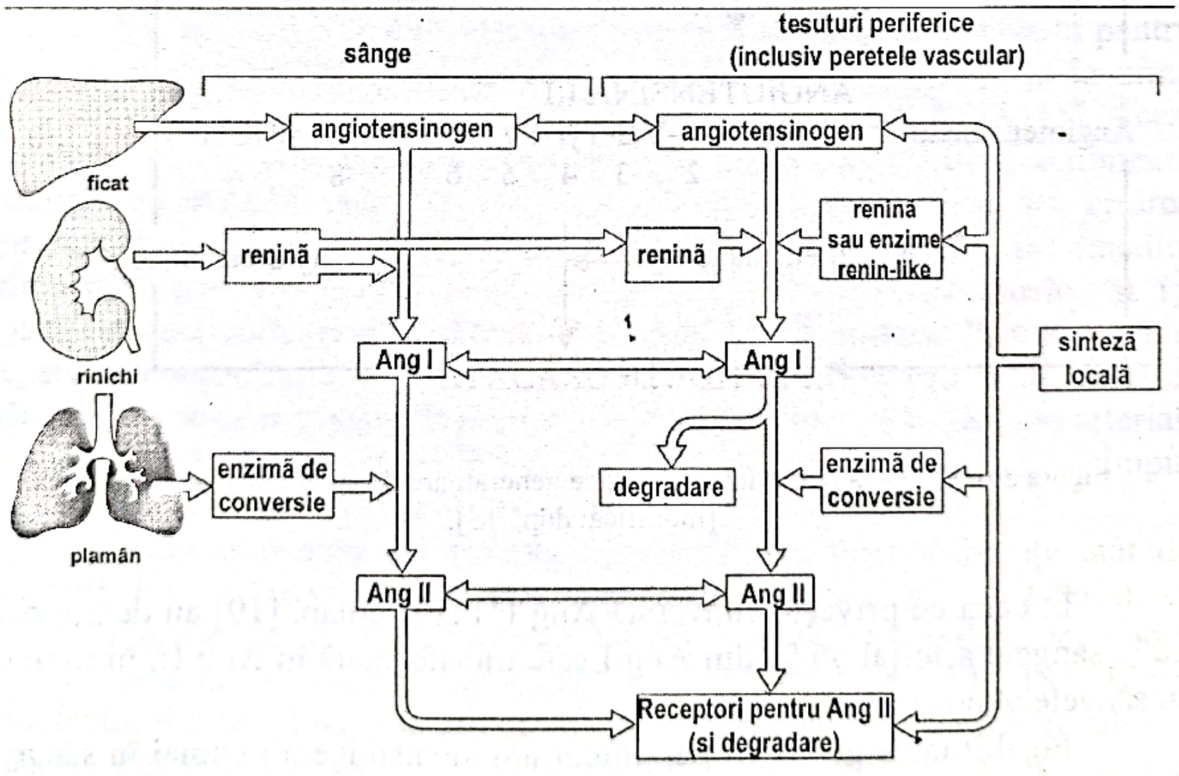


Figura 2.7. Participarea sistemului renină-angiotensină circulant la procesul de generare a angiotensinelor la nivel tisular.

Scanned with OKEN Scanner

2.3. IMPLICAȚIILE FIZIOLOGICE ALE SISTEMULUI RENINĂ-ANGIOTENSINĂ

Sistemul renină-angiotensină deține un rol important în controlul hemodinamicii intervenind atât asupra conținătorului (inimă și vase sanguine), cât și asupra conținutului (balanța hidroelectrolitică). Aceste acțiuni au efectori diferiți între care cei mai de seamă sunt inima și musculatura netedă vasculară, rinichiul, corticosuprarenala și creierul.

2.3.1. EFECTELE ANGIOTENSINELOR LA NIVEL CARDIAC

2.3.1.1. ACȚIUNILE SRA ASUPRA MUSCULATURII CARDIACE

Primele cercetări privind efectele cardiace ale angiotensinelor au fost realizate de Hill și Andrus [23] pe preparat de cord izolat și perfuzat de pisică la care au constatat reducerea fluxului coronar și scăderea amplitudinii contracțiilor. Cercetări efectuate *in vivo* atât la animale de experiență, cât și la oameni normotensivi au pus în evidență scăderea debitului cardiac, interpretat ca fiind rezultat al reflexelor baroreceptoare declanșate de administrarea angiotensinei [24, 25, 26, 27].

O trecere în revistă a efectelor angiotensinelor asupra activității cardiace scoate în relief că aceste peptide intervin atât asupra amplitudinii contracțiilor, cât și a frecvenței cardiace și implicit asupra debitului cardiac.

Cercetările întreprinse în legătură cu efectele Ang asupra contractilității cardiace sunt contradictorii după cum ele au fost efectuate pe preparate *in vitro* sau *in situ*. Astfel, Ang exercită efect inotrop pozitiv *in vitro*, dar mai redus în comparație cu norepinefrina.

Această acțiune a fost evidențiată pe atriul și mușchiul papilar izolat din cordul de cobai [28], precum și pe mușchiul papilar izolat din inima de pisică [29, 30, 31, 32, 33]. Efectul aplicării peptidului se realizează exclusiv prin creșterea ratei de dezvoltare a tensiunii [34]. Pe acest tip de preparat, acțiunea angiotensinei II nu este semnificativ alterată de rezerpină și agenți beta-adrenoblocanți [35]. Scăderea sensibilității preparatului la angiotensină prin creșterea concentrației de Ca^{2+} în mediu, a determinat pe autorul citat să considere acțiunea peptidului ca realizându-se prin facilitarea pătrunderii ionului în fibra miocardică. Aceste rezultate sunt însă total diferite de cele care indicau absența modificării efectului inotrop în condițiile scăderii Ca^{2+} și creșterea acestui efect în situația contrară [33, 36]. Răspunsul inotrop este și sodiu–dependent. Creșterea concentrației de sodiu de la 130 la 160 mM mărește efectul inotrop pozitiv al Ang II, în timp ce scăderea cu 30 mM îl reduce. Spre deosebire de observațiile de mai sus, există și cercetări care

Scanned with OKEN Scanner

indică blocarea răspunsului inotrop prin antagonişti beta-adrenergici [36]. În acest mod, efectul inotrop pozitiv ar putea fi atribuit eliberării de catecolamine.

În cazul preparatelor de cord perfuzat, rezultatele sunt şi mai contradictorii. Pe astfel de preparate, angiotensina II produce la iepure efecte inotrope pozitive [37, 38] sau negative [39]. Pe cord izolat de cobai s-au obţinut, de asemenea, creşteri [39], dar şi scăderi ale contractilităţii [28]. Aceste diferenţe nu sunt legate doar de specie, ci şi de doza de peptid utilizată întrucât dozele mari de Ang II măresc iniţial forţa de contracţie şi apoi o deprimă.

Efectul inotrop pozitiv este mult mai constant pe preparatele cord–pulmon de câine [40]. Fowler şi Holmes au observat o scădere iniţială de 10–20 de secunde a debitului şi forţei cardiace pe care o atribuie constricţiei coronariene [32]. Nefiind influenţat de rezerpină, efectul inotrop pozitiv al angiotensinei ar fi independent de stocurile de catecolamine miocardice. Ulterior, Farr şi Grupp au observat abolirea efectului în condiţiile beta–adrenoblocării, deaferentării chirurgicale acute şi chiar a tratării cu rezerpină [41]. Efectul blocant al probetalolului confirmă aceste date [42, 43, 44]. Acţiunile angiotensinei s-ar putea realiza în mod indirect, prin intermediul nervilor simpatici, întrucât la animalul intact, distrugerea ganglionului cervical inferior sau secţionarea fibrelor postganglionare abolesc acţiunea cardiacă a peptidului [41].

Acţiunile inotrope ale angiotensinei sunt dificil de studiat pe animalul intact datorită interferărilor realizate prin alte modificări cardiovasculare. Numeroase studii pe om au arătat că angiotensina creşte presiunea în atriul stâng şi presiunea ventriculară la sfârşitul diastolei [45, 46, 47]. Este posibil ca acest efect să fie doar consecinţa unei creşteri a presiunii arteriale sistemice care ar induce reflex scăderea frecvenţei cardiace, creşterea timpului de umplere ventriculară, a volumului rezidual şi a presiunii diastolice finale [48]. Aceste fenomene ar putea genera prin mecanismul Frank–Starling creşterea volumului – bătaie chiar dacă angiotensina ar fi lipsită de efecte miocardice directe. Controlând independent presiunea sistemică, debitul şi frecvenţa cardiacă pe preparate de pisică, Downing şi Sonnenblick au observat că în condiţiile menţinerii constante a lucrului mecanic ventricular, infuzia de angiotensină reduce tranzitoriu fluxul coronarian [30]. Date similare s-au obţinut şi pe câini anesteziaţi [48, 49, 50]. Şi în aceste cercetări creşterea debitului – bătaie se atribuie unui efect Starling secundar creşterii presiunii sistemice.

Scanned with OKEN Scanner

2.3.1.2. MODIFICĂRI DE FRECVENȚĂ CARDIACĂ

Efectul cronotrop pozitiv al administrării de angiotensină este de obicei mascat de bradicardia reflexă determinată de răspunsul presor din circulația sistemică. Datorită acestui fapt, majoritatea cercetărilor au evidențiat la om apariția unei bradicardii [39, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59]. Administrarea de atropină și anestezia blochează acest răspuns [51, 53, 58]. Cercetările pe preparate cord–pulmon și cord izolat au dat rezultate variabile, mergând de la absența oricărui răspuns [28, 32] până la apariția unei bradicardii [40, 41, 59] sau chiar a unei tahicardii [39].

Cronotropismul pozitiv al angiotensinei II a fost demonstrat pentru prima oară pe animale anesteziate, cu un dispozitiv mecanic de compensare al efectului presor sistemic [60]. Același efect apare și pe animale cu denervare de sinus carotidian. Faptul că pe cord izolat nu apar decât efecte minime, a determinat autorii să ia în considerare posibilitatea ca efectul tahicardizant *in vivo* să se realizeze prin intermediul formațiilor nervoase adrenergice [31, 60]. Această ipoteză este astăzi confirmată prin cercetările care au evidențiat abolirea cronotropismului pozitiv în condițiile rezerpinizării [41, 62] sau a administrării de beta-adrenoblocanți [41, 42, 63, 64, 65, 66]. Posibilitatea realizării efectului prin descărcarea medulosuprarenalei a fost exclusă în experimente pe animale cu suprarenalectomie bilaterală [41, 66, 67]. În acest mod s-a stabilit sediul indubitabil periferic al acțiunii cronotrope. Absența unei cardioaccelerații semnificative în cursul infuziei de angiotensină în coronara dreaptă l-a determinat pe James să considere efectul cronotrop ca fiind datorat eliberării de catecolamine de natură extracardiacă [64].

Rezultatele opuse obținute de Krasney și colab. [48] și confirmate de Thompson și Edmonds [68] par să indice totuși că angiotensina ar elibera catecolaminele din terminațiile simpatice miocardice. Aiken și Reit la pisică, plasează sediul acțiunii la nivelul ganglionului stelat [69], în timp ce Farr și Grupp, la câine anesteziat, au obținut dovezi în favoarea ganglionului cervical inferior [70]. Este interesant faptul că, în doze foarte mari (10 μ g/Kg/min. intravenos), angiotensina II poate preveni la câine fibrilația ventriculară indusă prin administrarea de cloroform sau adrenalină [71], iar la cobai unele efecte cardiotoxice ale strofantinei [72].

2.3.1.3. DEBITUL CARDIAC

Cu toate că angiotensina II exercită în anumite situații exeprimentale efecte crono- și inotrop pozitive, ea nu determină decât rareori creșterea debitului cardiac. Rezultatele obținute sunt diferite în funcție de specie și de metoda de determinare utilizată. Tehnici de diluție, termodiluție și determinare cu flowmetre electromagnetice, aplicate la pisica anesteziată au

Scanned with OKEN Scanner

evidenţiat efecte variabile [44, 73]. La şobolanul anesteziat, tehnicile de diluţie nu pun în evidenţă modificări de debit cardiac [74], în timp ce tehnicile de termodiluţie evidenţiază scăderi [62]. Chiar şi în cadrul aceleiaşi specii şi cu aceeaşi tehnică s-au obţinut rezultate contradictorii. Astfel, la câini s-au descris creşteri ale debitului cardiac [44, 48], scăderi [52, 75, 76] sau absenţa oricăror modificări [43, 77, 78]. Scăderea debitului cardiac a fost uneori corelată cu scăderea aportului venos [79]. La maimuţă, angiotensina II determină întotdeauna scăderea debitului cardiac [80].

La om, cercetările iniţiale indicau lipsa de efect a angiotensinei II asupra debitului cardiac. Studiile ulterioare au evidenţiat în mod uniform scăderea debitului la adulţi [51, 53, 54, 58, 59, 81, 82], la copii [47] şi la pacienţi cu intervenţii chirurgicale pe cord [83]. Creşterea debitului cardiac în efort este, de asemenea, semnificativ diminuată de angiotensină [84, 85, 86]. Scăderea debitului cardiac este pusă fie pe seama scăderii volumului bătaie fie, mai ales, pe seama bradicardiei reflexe de natură vagală.

În faţa cantităţii mari de date acumulate, se poate considera că efectele stimulatoare cardiace ale angiotensinei sunt mediate exclusiv de terminaţiile nervoase adrenergice şi că, pe animalul intact sau la om, ele nu aduc o contribuţie majoră la răspunsul presor sistemic. De altfel, singurul răspuns proeminent al inimii la administrarea i.v. de angiotensină pare a fi bradicardia reflexă deja discutată.

2.3.2. ACŢIUNEA ANGIOTENSINEI ASUPRA PATULUI VASCULAR

Majoritatea covârşitoare a autorilor sunt de acord în a considera acţiunile vasculare ca reprezentând domeniul în care sistemul renină-angiotensină prezintă un impact funcţional maxim. Alături de corticosuprarenală, muşchiul neted vascular reprezintă organul ţintă de elecţie al sistemului renină-angiotensină.

2.3.2.1. ACŢIUNEA ANGIOTENSINEI ASUPRA MUŞCHIULUI NETED VASCULAR

Contracţia muşchiului neted vascular după aplicarea de angiotensină poate fi, cel puţin teoretic, fie consecinţa unei acţiuni directe, fie a unei acţiuni indirecte. Acţiunea directă ar fi reprezentată de suita de evenimente ce declanşează contracţia celulei musculare netede, în timp ce acţiunea indirectă s-ar realiza prin alterarea reglării nervoase. Diferenţierea celor două tipuri de acţiune este adesea dificil de realizat.

În ceea ce priveşte modul în care se realizează acţiunea indirectă, există două ipoteze. Prima, consideră că angiotensina ar putea determina eliberarea de noradrenalină (sau alţi agenţi umorali) din terminaţiile nervoase aflate în peretele vascular. Datele obţinute de Liebau şi colab. pe

Scanned with OKEN Scanner

vase izolate de la diferite specii, inclusiv de la om, au pus în evidenţă eliberare de catecolamine la administrarea de angiotensină [86]. Observaţii ulterioare au subliniat însă faptul că această eliberare apare doar la concentraţii de 10^{-5} g/ml, de circa 1000 de ori mai mari decât cele necesare pentru obţinerea altor efecte. În aceste condiţii se consideră că fenomenul, deşi prezent, nu joacă un rol semnificativ [87].

S-a încercat să se incrimineze acest mecanism în explicarea fenomenelor de tahifilaxie la angiotensină. Liebeau şi colab. au considerat fenomenul ca datorându-se depleţiei stocurilor de catecolamine încercând să accelereze revenirea din tahifilaxie prin expunerea muşchiului la noradrenalină 10^{-6} g/ml, timp de 10 minute [86]. Revenirea ar fi împiedicată de cocaină, iar tahifilaxia ar fi accelerată prin rezerpinizarea prealabilă. Din păcate acest tip de experimente reproduse ulterior de Walter şi Bassenge, Palaic şi Lemorvan nu au mai condus la aceleaşi rezultate [88, 89]. Importanţa redusă a acţiunii catecolaminelor eliberate este sugerată şi de faptul că angiotensina nu influenţează vasoconstricţia la un alt agent catecolamin- eliberator, cum este tiramina [90]. Pe de altă parte, tahifilaxia la tiramină nu influenţează vasoconstricţia prin angiotensină [89]. În acelaşi sens pledează numeroase observaţii privind păstrarea răspunsului la angiotensină în condiţiile blocării receptorilor alfa adrenergici cu fentolamină sau fenoxibenzamină pe organe sau vase izolate [87, 89, 91, 92, 93, 94, 95]. Trebuie menţionat însă şi faptul că în placenta umană, fenoxibezamina reduce vasoconstricţia prin angiotensină [96].

Pe animalul intact, blocarea alfa-receptorilor adrenergici a determinat efecte variabile. La pisica neanesteziată răspunsul presor la angiotensină nu este modificat [97]. La şobolani pretrataţi cu pentoliniu şi anesteziaţi, fentolamina deplasează spre dreapta curba doză – răspuns la angiotensină [98]. Acest efect s-ar putea însă datora şi desensibilizării la concentraţiile crescute de noradrenalină, atinse prin blocarea recaptării aminei de către terminaţiile nervoase.

Rezerpinizarea nu influenţează răspunsul vasoconstrictor la câine [99], în timp ce la pisică şi şobolan s-a descris o reducere a efectului presor [97, 98,100]. Nu trebuie însă neglijat faptul că rezerpina are şi o acţiune directă asupra metabolizării calciului în celula musculară netedă vasculară. Nici blocarea beta-receptorilor adrenergici nu afectează acţiunea angiotensinei la pisica intactă [97], pe vena portă de şobolan [95] sau pe aorta de iepure [91]. În cazul aortei s-a descris chiar şi un efect de potenţare prin propranolol [92].

Blocajul ganglionar la şobolanul intact ar mări afinitatea receptorilor la angiotensină II [101, 102], dar nu pare să influenţeze răspunsul vascular al aortei de iepure [91] sau răspunsul presor la pisică neanesteziată [97].

Scanned with OKEN Scanner

O altă modalitate de acțiune indirectă a Ang II asupra mușchiului neted ar fi cea reprezentată de inhibiția recaptării de noradrenalină în terminațiile nervoase adrenergice. Excesul de noradrenalină astfel creat ar putea eventual constitui un factor determinant al vasoconstricției. Cercetările ulterioare au adus în favoarea acestei ipoteze argumente mai convingătoare decât în cazul celei precedente. Blocarea prin angiotensină a captării de noradrenalină în butonii terminali a fost evidențiată în cordul și splina de șobolan [90], în patul vascular perfuzat la pisică [104], în rinichi și uter [105]. Potențarea răspunsului la stimularea fibrelor simpatice în prezența angiotensinei a fost confirmată pe circulația arterială a urechii de iepure [105], pe spirală aortică de șobolan [89] și pe vase mezenterice de pisică [104]. Același efect apare și în cazul venei safene [106]. Pals și colab. au observat potențarea prin angiotensină a răspunsului presor la pisica demedulată și o consideră a fi mai puțin importantă decât potențarea prin cocaină sau desipramină [90].

Anticorpii la angiotensină, împiedicând acțiunea peptidului asupra terminațiilor nervoase, deprimă răspunsul la norepinefrină pe urechea de iepure [105] sau pe circulația de șobolan anesteziat [107].

Din datele prezentate rezultă că angiotensina II exercită un efect indirect prin blocarea recaptării de noradrenalină în butonii terminali. Acest efect are o semnificație funcțională particulară întrucât astfel se realizează potențarea răspunsului vascular la catecolamine. Nu este totuși exclusă total posibilitatea ca potențarea efectului norepinefrinei să se realizeze printr-un efect muscular direct al angiotensinei. În acest sens pledează observațiile privind persistența și chiar creșterea efectului peptidului la animale denervate cronic [104].

Faptul că efectul vascular preponderent al angiotensinei este și de tip direct a fost demonstrat pe animale la care răspunsul vascular renal la angiotensină nu este modificat prin denervare [99, 108]. De altfel, angiotensina este un puternic constrictor al arterei ombilicale de oaie, formațiune lipsită de inervație [109]. În același sens pledează faptul că răspunsul la angiotensină este mai mare pe rinichiul izolat și perfuzat decât *in situ* [108, 110]. Unicul efect angiotensinic pe coronare este cel vasoconstrictor, în timp ce catecolaminele determină vasodilatație [88, 100, 110]. Răspunsul vasoconstrictor la angiotensină este sodiu-dependent, în timp ce răspunsul la catecolamnine nu este influențat de nivelul sodiului din mediu.

Rezumând datele mai sus prezentate, se poate considera acțiunea vasoconstrictoare a angiotensinei ca fiind de tip direct, muscular. Dintre efectele indirecte, cel care ar putea avea o oarecare semnificație funcțională este blocarea recaptării de noradrenalină care ar potența efectele stimulării simpatice. Acest efect este deocamdată insuficient evaluat.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

2.3.2.2. FENOMENELE DE TAHIFILAXIE ŞI AUTOPOTENŢARE

Stimularea repetată a muşchiului neted vascular cu angiotensină poate determina răspunsuri ce rămân nemodificate, crescute sau de scădere treptat. Amplitudinea răspunsului depinde de concentraţia peptidului, frecvenţa de aplicare, sediul anatomic, specia animală şi compoziţia mediului.

Cercetările referitoare la fenomenele de tahifilaxie şi autopotenţare au reprezentat o bază importantă a studiilor privind interacţiunea peptidului cu receptorii specifici.

Tahifilaxia la angiotensină a reprezentat obiectul unor cercetări extensive pe muşchi neted vascular izolat, de diferite origini. Fenomenul este mai accentuat la pisică decât la iepure [105]. Gradul de tahifilaxie este diferit în diversele teritorii vasculare. La câine, arterele mici nu prezintă tahifilaxie [111], în timp ce fenomenul apare evident la nivelul coronarelor şi carotidelor de câine [88], pe aorta de cobai [89, 112], arterele uterine, mezenterice şi coronare de om [100, 113, 114].

Aorta de iepure, frecvent folosită ca preparat izolat, nu prezintă tahifilaxie în cazul răspunsului maximal [115]. În cazul dozelor submaximale răspunsul scade, probabil datorită timpului de menţinere în baia de organ izolat [111]. Sistemul arterial al urechii perfuzate de iepure este de asemenea dificil de tahifilactizat [116].

In vivo, tahifilaxia este în general mai redusă decât în condiţiile vaselor izolate. Ea nu apare în cazul răspunsului vasoconstrictor al antebraţului de om [117].

Aşa cum s-a menţionat şi într-un capitol anterior, cea mai satisfăcătoare explicaţie a tahifilaxiei la angiotensină este furnizată de teoria ocupării receptorilor specifici. În acest sens pledează eficacitatea angiotensinazei sau a schimbătorului ionic Dowex–50 în revenirea ţesuturilor tahifilactizate la angiotensină [11, 88, 105]. Activitatea angiotensinazică a peretelui vascular este invers proporţională cu sensibilitatea la tahifilaxie a vasului respectiv. Desprinderea ^{125}I-angiotensinei de ţesuturile ţintă pe care se fixează este un proces lent care poate fi accelerat prin adăugarea de angiotensină nemarcată, angiotensinază sau Dowex–50. Reducerea tahifilaxiei *in vivo* ar putea fi consecinţa cantităţilor mari de angiotensinază circulantă.

Încercarea de a explica tahifilaxia prin depleţia stocurilor de catecolamine a fost infirmată de faptul că fenomenul nu este reversibil în prezenţa acestor amine [88].

În apariţia tahifilaxiei la angiotensină ar putea fi eventual incriminată şi activarea unui mecanism cuplat de intrare a Ca^{2+} şi ieşire a Na^{+}, care să

reducă astfel efectul contractil [112, 119]. Mecanismul este încă imprecis delimitat şi explicaţia majoră a tahifilaxiei rămâne ocuparea receptorilor specifici.

În cursul stimulării repetate cu angiotensină apare uneori autopotenţarea – fenomen de sens opus tahifilaxiei. Expunerea ţesuturilor la concentraţii mari de angiotensină (2×10^{-6} M) determină potenţarea răspunsurilor la doze mici, în timp ce pentru dozele mari apare tahifilaxia [119]. Se citează şi observaţii privind creşterea răspunsului maximal cu până la 150 % [112]. Fenomenul ar putea fi explicat fie de creşterea Ca^{2+} intracelular prin cuplajul amintit mai sus, fie prin creşterea numărului de receptori în prezenţa angiotensinei [89].

2.3.2.3. SENSIBILITATEA DIFERENŢIATĂ LA ANGIOTENSINĂ A MUŞCHIULUI NETED VASCULAR

Deşi are reputaţia de a fi un puternic vasoconstrictor fiziologic, angiotensina nu determină aceleaşi efecte pe muşchiul neted vascular din diferite regiuni ale corpului. Amplitudinea contracţiei sale este în general mai redusă decât cea obţinută prin activarea receptorilor adrenergici. Tabelul 2.3. ilustrează heterogenitatea răspunsului la angiotensină a muşchiului neted vascular de diferite origini.

Tabelul 2.3. Răspunsul la angiotensină exprimat în procente din reacţia maximă la adrenalină sau noradrenalină

Vas	% din răspunsul maxim	Citat după
Artera renală mică de câine	0	Bohr şi Uchida (1967)
Artera renală mare de câine	6	Somlyo şi Somlyo (1971)
Artera pulmonară de iepure	21	Somlyo şi Somlyo (1971)
Artera uterină de om	45	Gough şi Dyer (1971)
Aorta de iepure	55 – 65	Altura şi Altura (1971)
Artera ombilicală de oaie	328	Dyer (1970)

Este posibil ca aceste diferenţe teritoriale ale răspunsului la angiotensină să reflecte diferenţele de densitate ale repartiţiei receptorilor specifici. Densitatea pare a fi deosebit de redusă în patul vascular renal.

Diferenţele nu apar doar în cazul unor paturi vasculare diferite, ci chiar în cadrul aceluiaşi pat vascular de la un segment la altul. Astfel, în cazul vaselor din muşchii scheletici, angiotensina este un vasoconstrictor mai eficace al sfincterului precapilar decât noradrenalina [120].

Scanned with OKEN Scanner

După Bohr şi Uchida, arterele ar putea fi grupate în trei categorii [111]:

1. artere cu răspuns tranzitoriu – care se contractă şi apoi se relaxează chiar când angiotensina persistă în mediu (arterele musculaturii scheletice, mezenterice, subcutane, coronare şi arterele de rezistenţă din creier);
2. artere cu răspuns persistent care se contractă şi rămân contractate în prezenţa angiotensinei (aortă de câine şi iepure);
3. artere insensibile la angiotensină (arterele de rezistenţă renale).

Acelaşi efect vasoconstrictor, mai puternic decât al norepinefrinei, apare şi în cazul venulelor postcapilare de rezistenţă. Venele mai mari, capacitive, sunt în schimb mai sensibile la noradrenalină.

Diferenţele de sensibilitate la angiotensină apar şi între diferite teritorii venoase [106, 121]. De exemplu, vena pulmonară la câine nu răspunde la angiotensină [122], în timp ce vena renală se relaxează sub acţiunea peptidului [103].

Fragmentele izolate din venele hepatice, portă, mezenterice şi lobare pulmonare se contractă chiar la concentraţia de 5 ng/ml, în timp ce fragmente izolate din venele cave, safene, axilare sau femurale nu răspund nici la concentraţia de 500 µg/ml [123]. Alte cercetări au evidenţiat sensibilitatea venelor cave inferioare de pisică şi iepure la concentraţii foarte reduse de peptid. În astfel de preparate, tahifilaxia se dezvoltă foarte rapid iar în unele cazuri, singurul efect decelabil este facilitarea contracţiei induse prin stimulare electrică [75].

2.3.2.4. IMPLICAŢIILE ANGIOTENSINEI II ÎN HEMODINAMICA SISTEMICĂ

Având ca termen de comparaţie greutatea totală, angiotensina II este de 6–8 ori mai activă decât noradrenalina la subiecţi sănătoşi, iar pe baza greutăţii moleculare octapeptidul devine de 40 –50 ori mai activ [54].

Indiferent de subiecţii analizaţi, injectarea intravenoasă unică de angiotensină II produce la indivizi sănătoşi acelaşi efect [125, 126]. După o latenţă de 20–30 sec., presiunea arterială creşte brusc, atingând maximum în 1–2 minute şi revenind la normal după 3–5 minute. Dozele mici dau răspunsuri reproductibile, în timp ce la dozele mari poate să apară frecvent fenomenul de tahifilaxie [127]. Mărimea şi durata răspunsului presor sunt de obicei dependente de doză. Calea de administrare a acestor doze unice condiţionează de asemenea efectul lor. Injectarea intravenoasă determină efecte presoare mai importante decât injectarea intraarterială. Această diferenţă de acţiune este atribuită fie angiotensinazelor din patul capilar, fie datorită fixării peptidului pe receptorii arteriali [39, 128, 129]. Injectarea subcutanată sau intramusculară reduce de 5–100 de ori efectul presor al unei doze date [126, 130].

Scanned with OKEN Scanner

Aceeaşi scădere a răspunsului presor la o doză dată s-a obţinut şi prin infuzarea peptidului în artera hepatică şi renală [131]. Pe circulaţia antebraţului de om angiotensina în infuzie intravenoasă este de 8 ori mai activă decât noradrenalina, iar în infuzie intraarterială de 2 ori mai puţin activă [57]. Creşterea rezistenţei vasculare este de 26 % după infuzia i.v. la câine neanesteziat, în timp ce infuzia de ADH determină creşteri de 290 %. La şobolanii cu diabet insipid, efectele presoare ale Ang II sunt mai slabe [132].

Perfuzia cu angiotensină determină creşterea presiunii arteriale pentru intervale de ore şi chiar zile. Întreruperea perfuziei este urmată de scăderea la sau sub valorile iniţiale [52, 133, 134, 135]. Dacă doza este prea ridicată apare tahifilaxia şi presiunea scade deşi perfuzia este menţinută [52, 55, 127, 133, 134, 135]. Dickinson şi Lawrence [136], McCubbin şi colab. [137], confirmaţi ulterior de Kezdi şi Namura [138], au observat faptul că infuzia de angiotensină în doze subpresoare determină în timp apariţia unei hipertensiuni sistemice susţinute. Efectul a fost atribuit unei stimulări a sistemului nervos simpatic.

Angiotensina II este considerată ca fiind responsabilă de menţinerea presiunii arteriale şi hipersecreţia de aldosteron în cursul probei ortostatice la persoane cu depleţie sodată [139].

Cât priveşte efectele angiotensinei asupra circulaţiei venoase, astăzi este bine stabilit că peptidul exercită o acţiune mult mai redusă asupra sectorului venos decât asupra celui arterial. În acest sens pledează faptul că, asupra venelor capacitive angiotensina exercită efecte mult mai reduse în comparaţie cu noradrenalina, în timp ce în sectorul arterial rezistiv raportul este inversat [140]. Aceste efecte, observate la pisică, au fost apoi găsite la câine [127, 141, 142] şi la om [57, 143]. Relativa insensibilitate la angiotensină a venelor este pusă pe seama densităţii scăzute a receptorilor specifici. Şi în aplicări topice *in situ*, angiotensina nu modifică tonusul segmentului venos studiat la om cu toate că injectarea intravenoasă măreşte presiunea venoasă [142]. Întrucât blocajul nervos regional a prevenit acest ultim efect, el a fost atribuit unor eventuale mecanisme reflexe.

Răspunsul presor sistemic la angiotensină se însoţeşte întotdeauna de creşterea presiunii venoase centrale. Această creştere este mult mai redusă decât cea determinată de noradrenalină şi pare a fi de origine reflexă întrucât este blocată de atropină şi de anestezia cu tiopental.

Rezumând datele prezentate se poate spune că răspunsul presor provocat de angiotensină la animalul intact este determinat de constricţia vaselor de rezistenţă precapilare fără modificări semnificative în teritoriul venos capacitiv.

Scanned with OKEN Scanner

2.3.2.5. EFECTE CIRCULATORII REGIONALE ALE ANGIOTENSINEI

2.3.2.5.1. Circulaţia renală

Efectele hemodinamice renale ale injectării sau infuziei intravenoase de angiotensină II sunt cunoscute încă din deceniul al 4-lea al secolului trecut. Cercetările din 1939 ale lui Corcoran şi Page semnalau scăderea marcată a fluxului sanguin renal. Scăderea filtrării glomerulare fiind mai puţin importantă, fracţia filtrată este crescută. Herrick şi colab. [144] au comparat efectele injectării unice de renină cu ale administrării de angiotensină. În cazul dozelor de renină capabile să determine un efect presor de 60 mm Hg, scăderea fluxului renal apare cu o latenţă de 30 de sec. până la 1 minut, atinge un maximum la 2 minute şi scade la 50 % din valoarea maximă după 3–5 minute, menţinându-se la aceste valori câteva minute. Angiotensina în doze biologic comparabile, determină efecte imediate ce ating un maximum după 1 minut cu revenire la normal în 2–3 minute. Aceste date au fost confirmate ulterior de numeroşi alţi autori [145, 146].

Efectele angiotensinei şi reninei asupra debitului urinar şi excreţiei de sodiu variază în funcţie de doză. Au fost observate atât acţiuni diuretice şi natriuretice cât şi efecte antidiuretice şi antinatriuretice [147, 148, 149, 150, 151, 152, 153].

La om, dozele de 1–5 ng/Kg corp/min. intravenos determină răspunsuri presoare minime. În acest caz apar efecte antinatriuretice şi antidiuretice prin scăderea fluxului sanguin renal şi scăderea mai redusă a filtrării glomerulare [154, 155, 156]. Aceste efecte devin mai accentuate la doze mai mari, cu acţiune presoare evidentă de 20–40 mm Hg la 20–40 ng/Kg corp/min. şi 30–50 mm Hg la 100 ng/Kg corp/min. [54, 157, 158, 159, 160]. Scăderea fluxului renal, a filtrării glomerulare, a diurezei şi natriurezei sunt direct proporţionale cu logaritmul dozei administrate [130]. Sensibilitatea vaselor renale la angiotensină este maximă la om. La câine [161, 162, 163, 164, 165], iepure [166], şobolan [167, 168, 169] şi maimuţă [80], sensibilitatea vasculară este mai redusă. Datele concordă în ceea ce priveşte efectul de creştere substanţială a fracţiei filtrate. Modificările filtrării sunt, în general, mai discrete decât scăderile fluxului sanguin.

Administrarea intraarterială de Ang II determină scăderi masive şi instantanee ale fluxului renal chiar până la zero [99, 170]. La câine neanesteziat rezistenţa vasculară creşte cu 111 %. Totuşi, acest efect este trecător şi scăderea maximă de durată este doar de 50 % din valoarea iniţială. S-a observat că dozele de 0,1 μg/min. şi cele de 10 ori mai mari, produc aceeaşi scădere a fluxului sanguin renal [170, 171, 172, 173]. Dozele mari, ce determină scăderi de peste 50 % a fluxului sanguin renal, au efecte de durată mai redusă decât cele datorate dozelor mici [161, 162, 170].

Scanned with OKEN Scanner

Inervaţia vegetativă pare să reprezinte un element de seamă în desfăşurarea reacţiei vasculare renale la angiotensină. S-a considerat iniţial că denervarea renală aboleşte sau inversează acţiunea locală a angiotensinei. Datele ulterioare au demonstrat că denervarea nu afectează răspunsul vascular renal direct la angiotensină [99, 169, 174]. Efectele semnalate iniţial se datorau probabil modificărilor presiunii arteriale sistemice şi ale tonusului simpatic local. Nu este exclusă totuşi posibilitatea ca integritatea inervaţiei renale să joace un rol în răspunsurile de durată la doze foarte reduse de peptid.

Între presiunea arterială sistemică, răspunsurile presoare renale la angiotensină şi efectele asupra diurezei şi natriurezei există interrelaţii complexe. Creşterea presiunii în artera renală determină creşteri ale diurezei cu atât mai importante cu cât presiunea arterială sistemică iniţială este mai ridicată. Acest fenomen a fost descris de Selkurt [175], Thurau şi Deetjen [176] sub numele de „diureză presoare" şi cauzele sale nu sunt complet elucidate [177, 178]. Relaţia exponenţială dintre presiunea în artera renală şi diureză nu este afectată de infuzia intraarterială în cantităţi mici de angiotensină [2,5 ng/Kg corp/min.). La doze mari curba ce exprimă această relaţie este profund alterată. Porţiunea iniţială, corespunzătoare unor presiuni reduse, este mult apropiată de orizontală, în timp ce a doua jumătate, corespunzătoare unor regimuri presionale înalte, este apropiată de verticală. În aceste condiţii, aceleaşi doze de angiotensină au efect antidiuretic sau sunt lipsite de efect la presiuni sistemice joase şi au efecte diuretice la presiuni crescute, deşi răspunsul presor în ambele cazuri este acelaşi [171]. Aceasta ar putea explica de ce efectul antidiuretic şi antinatriuretic este constant la persoane cu presiunea arterială sistemică normală în timp ce aceleaşi doze determină la hipertensivi efecte variabile. Bineînţeles că, în cazul dozelor mari de peptid, diureza presională nu mai explică efectele ce apar şi atunci când presiunea de perfuzie este controlată.

Un alt factor care afectează răspunsul vascular renal la angiotensină, pe lângă cei enumeraţi mai sus (doză, anestezie, inervaţia autonomă, regim presional), este şi echilibrul sodat al organismului.

Depleţia sodată scade sensibilitatea vasculară la dozele mici de angiotensină, eliminând practic efectul antidiuretic normal şi mărind probabilitatea apariţiei efectelor diuretice şi natriuretice [179, 180]. Diureza instalată este în general redusă şi este posibil ca efectul tubular al angiotensinei să fie astfel demascat prin absenţa efectului vascular. Scăderea reactivităţii vasculare la angiotensină în absenţa sodiului s-ar putea datora creşterii angiotensinei endogene [155, 181].

Scanned with OKEN Scanner

Creşterea treptată a excreţiei bazale de Na^+ peste 100 µEq/min. determină la om dezvoltarea treptată a răspunsului vasoconstrictor renal [155], încărcarea sodată amplificând răspunsul vascular renal la doze subpresoare [182].

Rolul local al angiotensinei endogene în modificarea răspunsului renal la doze mici de angiotensină exogenă a fost investigat în condiţiile stenozei experimentale sau clinice unilaterale ale arterei renale. Cercetările îndreptate în această direcţie au dat rezultate contradictorii. Mc Giff şi Itskovitz [183], Peters [184] au observat scăderea răspunsului vasoconstrictor şi apariţia efectelor diuretice şi natriuretice în rinichiul ischemic experimental. În aceleaşi condiţii, s-a semnalat apariţia fenomenului doar la animalele devenite hipertensive în urma stenozei unilaterale, la restul animalelor normotensive, angiotensina fiind antidiuretică pe amândoi rinichii.

La pacienţi hipertensivi cu stenoză unilaterală de arteră renală, Jones şi Barraclough [185], Păuşescu şi colab. [186] au observat efecte diuretice la rinichiul normal în cursul infuziei i.v.de angiotensină exogenă. În aceleaşi condiţii, Brown şi colab. [133, 134, 135], Itskovitz şi colab. [187] au constatat apariţia bilaterală a diurezei la doze antidiuretice. În nici unul din aceste studii nu s-a cercetat secreţia de renină din fiecare rinichi separat.

Hipertensiunea arterială esenţială severă reprezintă şi ea o condiţie de alterare a răspunsului vascular renal la angiotensina exogenă. Doze de 1–3 µg/min., care la normotensivi duc la antidiureză şi scăderea clearence-ului PAH şi inulinei, determină la hipertensivi efecte natriuretice şi diuretice, fără modificări de clearence [158, 187, 188, 189]. Acest răspuns dispare odată cu scăderea presiunii şi este mai accentuat la pacienţi cu încărcare sodată [172]. El poate apărea uneori şi fără ca angiotensina să determine efect presor [190]. În cazurile în care valorile presionale sunt mai reduse (30–50 % din pacienţi), apare obişnuitul efect antidiuretic [191, 192]. Efectul natriuretic este de obicei asociat creşterii filtrării glomerulare de natură hemodinamică [164, 193]. În alte studii s-a semnalat la hipertensivi posibilitatea asocierii efectului diuretic cu scăderea ratei de filtrare glomerulare [191]. În aceste condiţii devine posibilă incriminarea unor acţiuni tubulare mai ales că, în această situaţie, efectul natriuretic este mult mai amplu decât cel diuretic.

Şi în ciroza ascitică angiotensina în doze mici (3,8 µg/min.) determină efecte diuretice asociate cu o scădere a sensibilităţii vasculare la peptid. Depleţia sodată la aceiaşi pacienţi determină reapariţia efectului antidiuretic şi a sensibilităţii vasculare normale [194]. Între efectul diuretic şi rata de filtrare glomerulară nu s-a putut găsi totuşi o corelaţie evidentă.

Scanned with OKEN Scanner

Acţiunea natriuretică prezentă în unele cazuri, este antagonizată de aldosteron şi spironolactonă, ceea ce arată că este de natură tubulară şi nu hemodinamică [189].

Sarcina cu hiperreninemie se însoţeşte, de asemenea, de o inversare a răspunsului renal la angiotensină [195, 196].

Efectele natriuretice pot fi explicate nu numai printr-un eventual blocaj al transportului de sodiu, ci şi prin modificări hemodinamice intrarenale. Din această categorie ar putea face parte: redistribuţia fluxului sanguin renal, vasoconstricţia selectivă în structurile medulare intrarenale, modificarea permeabilităţii capilarelor glomerulare sau peritubulare [197, 198].

Numeroase studii s-au centrat pe clarificarea alterărilor hemodinamice intrarenale determinate de angiotensină. După administrarea sistemică, angiotensina determină creşteri ale rezistenţei vasculare renale, similare cu cele observate în alte regiuni vasculare [144, 199, 200, 201]. La maimuţă, de exemplu, angiotensina în doză de 15–210 ng/kg/min. determină creşteri substanţiale ale rezistenţei vasculare, ceva mai accentuate în teritoriul renal [80]. Arteriografic, s-a pus în evidenţă lărgirea pasivă a trunchiului arterei renale probabil datorită constricţiei arteriolelor de rezistenţă. Cercetările *in vitro* realizate de Bohr şi Uchida [111] au dus la rezultate contradictorii. Angiotensina nu a determinat constricţia vaselor renale de rezistenţă cu diametrul exterior de 250–500 microni, care răspundeau la adrenalină şi noradrenalină, iar în alte teritorii vasele reacţionau prin constricţie.

Dozele echipresoare de noradrenalină au efecte mai generalizate şi nu determină scăderi atât de pronunţate ale fluxului sanguin renal [143, 201]. Atât angiotensina, cât şi noradrenalina reduc fluxul sanguin renal în mai mare măsură decât rata de filtrare glomerulară [194]. Efectul diuretic la doze echipresoare este mai redus pentru noradrenalină decât pentru angiotensină [202].

Atât renina, cât şi angiotensina măresc fracţia filtrată. Acest fapt a incitat numeroşi autori să considere angiotensina ca având o acţiune predominantă la nivelul arteriolei eferente. Presupunerea nu a fost confirmată de datele cercetărilor efectuate în acest sens. Creşterea fracţiei filtrate este doar consecinţa creşterii presiunii de filtrare glomerulare şi nu indică existenţa unui efect special la nivelul arteriolei eferente. Faptul că rata de filtrare glomerulară diminuă sub acţiunea angiotensinei nu înseamnă că presiunea de filtrare scade, deoarece simultan creşte şi fracţia filtrată, ducând la creşterea presiunii oncotice. Menţinerea ratei de filtrare ar însemna în aceste condiţii, creşterea presiunii glomerulare [1].

Scanned with OKEN Scanner

Se consideră astăzi că angiotensina afectează atât arteriola aferentă, cât şi pe cea eferentă. Se pare însă că efectul este mai susţinut în timp pe arteriola eferentă [147]. Este de presupus că efectele pe arteriola aferentă nu modifică reacţiile autoreglatoare ale segmentelor profunde.

Segmentul venos renal nu a fost studiat în detaliu. Se citează doar o uşoară venoconstricţie [203] sau absenţa oricărui efect [204] în condiţiile administrării de angiotensină.

Pe baza unor studii angiografice, Daniel şi colab. sugerau faptul că, renina, în doze mari, ar putea determina perioade relativ mari de ischemie corticală cu vasoconstricţie pe arteriolele intrarenale mici [205]. Ulterior, Barger a considerat că alterările discrete ale rezistenţelor vasculare intrarenale ar putea determina modificări ale reabsorbţiei de sodiu mult mai accentuate decât cele presupuse pe baza datelor privind modificările irigaţiei şi ratei de filtrare glomerulară globale [206]. Datele privind redistribuirea fluxului sanguin intrarenal sunt însă destul de controversate. Faptul că angiotensina nu afectează capacitatea maximă tubulară pentru PAH şi glucoză, precum şi raportul de extracţie al PAH, pledează împotriva unei redistribuiri între nefronii corticali periferici şi cei juxtamedulari [155, 161, 162, 169, 207]. Pe de altă parte, studiile care au utilizat tehnici de spălare a unui gaz inert suportă ideea unei scăderi a fluxului sanguin cortical, în timp ce fluxul sanguin în nefronii profunzi, juxtamedulari, este menţinut sau creşte [208, 209]. În aceste condiţii, filtratul traversează în cantităţi mai mari nefronii lungi, sodiul şi apa fiind reabsorbite mai puternic. Efectele diuretice au fost explicate printr-o redistribuire de sens contrar, în favoarea nefronilor corticali scurţi [202]. Dozele reduse de angiotensină ar reduce doar fluxul medular, în timp ce dozele mari ar afecta întreaga circulaţie [210, 211].

Utilizarea altor tehnici, de clearance local, de spălare a hidrogenului, de termocuplu cald sau cu microsfere din material plastic, au adus argumente împotriva redistribuirii fluxului sanguin intrarenal prin angiotensină [163, 212, 213].

Se pare însă că ipoteza modificării selective a rezistenţei vasculare intrarenale de către angiotensina exogenă nu beneficiază, cel puţin deocamdată, de argumente satisfăcătoare.

Problema se pune în mod diferit în cazul angiotensinei produse endogen. Faptul că renina se află în cantităţi semnificativ mai mari la nivelul glomerulilor corticali externi ar putea determina redistribuiri de flux cu semnificaţie funcţională majoră [133, 134, 135].

Datele comparative privind acţiunea angiotensinei şi a altor substanţe vasoactive asupra distribuţiei fluxului sanguin intrarenal sunt prezentate în tabelul 2.4.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 2. 4 Distribuţia fluxului sanguin intrarenal sub acţiunea diverselor substanţe vasoactive

Substanţă	Tehnic	Autor	Modificare faţă de valoarea iniţială	
			Corticala	Medulara
Angiotensină	Angiografie	Daniel şi colab., 1954	–	0
	Tmax PAH, glucoză	Aurell, 1969	–	–
	Termocuplu cald	Grangsjo, 1971	–	–
	Microsfere	Rector, 1971		–
	Desaturare Kr^{85}	Carriere şi colab., 1966, 1969, 1970	–	
		Finberg şi Peart, 1970		–
		Aukland, 1968	–	
	Desaturare H_2	Deutsch şi colab., 1971	– +	–
	Desaturare Rb^{86}			–
Adrenalină	Tuş de India, angiografie	Trueta şi colab., 1947	–	+ 0
	Termodiluţie	Ochwadt şi Schmier, 1954	–	–
		Scher, 1951	–	–
	Termodiluţie	Sadler şi Turttle, 1963		
	Termodiluţie	Carriere şi colab., 1969	–	–
	Desaturare Kr^{85}		–	0
Noradrenalină	Termodiluţie	Scher, 1951	–	–
	Desaturare Kr^{85}	Barger şi Herd, 1966	–	+
		Carriere şi colab., 1966		
	Desaturare Kr^{85}	Aukland, 1968	–	0
		Grangsjo, 1971		
	Desaturare H_2		–	–
	Termocuplu cald		–	+ –
CO_2 inhalat	Termocuplu cald	Grangsjo, 1971	–	+ –
Bradikinină	Termocuplu cald	Grangsjo, 1971	+	+

2.3.2.5.2. Circulaţia pulmonară

La om, angiotensina determină în toate cazurile creşterea presiunii în arterele pulmonare [81, 139, 214]. Mecanismul acestei creşteri este controversat. Faptul că volumul central de sânge nu este modificat, precum şi absenţa unui gradient de presiune între artera pulmonară şi atriul stâng, au determinat pe Yu şi colab. să considere hipertensiunea pulmonară ca fiind un fenomen pasiv, datorat creşterii presiunii diastolice ventriculare stângi [45]. Absenţa unei căderi de presiune în circuitul pulmonar a fost

Scanned with OKEN Scanner

însă interpretată de alţi autori ca indicând de fapt apariţia unei vasoconstricţii pulmonare active [51]. Măsurând simultan presiunea în artera şi capilarele pulmonare, De Bono şi colab. au evidenţiat creşteri simultane în ambele segmente, rezultând probabil dintr-o acţiune directă asupra circulaţiei pulmonare [54].

La câine şi pisică, angiotensina nu pare să exercite vreun efect direct asupra vaselor pulmonare. Dozele care măresc presiunea sistemică nu afectează semnificativ presiunea arterială pulmonară [39, 73, 215], sau determină doar creşteri puţin importante [45, 76, 216]. Substituind o pompă peristaltică ventriculului stâng, Rose şi colab. au putut demonstra că angiotensina nu are efecte directe asupra vaselor pulmonare [142]. Eventualele creşteri de presiune în mica circulaţie trebuie atribuite unor factori extrapulmonari. Aceste date concordă cu observaţiile lui Chimoskey şi colab. privind creşterea volumului central de sânge şi presiunii în atriul stâng [77]. Este posibil însă ca vasoconstricţia sistemică să forţeze intrarea sângelui în patul pulmonar.

Datele obţinute pe şobolan sunt mult mai variabile chiar în condiţiile utilizării aceloraşi tehnici. Utilizând clearance-ul tisular al Rb^{86}, Gomori şi colab. găsesc fluxul sanguin scăzut sau nemodificat în condiţiile creşterii rezistenţei vasculare [74]. Cu aceeaşi metodă, Mandel şi Sapirstein au obţinut rezultate de sens opus [200]. Folosindu-se o tehnică similară s-a observat că dozele mari de angiotensină determină cele mai mari creşteri de flux sanguin regional la nivelul circulaţiei pulmonare.

2.3.2.5.3. Circulaţia coronariană

Efectele directe ale angiotensinei asupra circulaţiei coronariene sunt dificil de evidenţiat pe animalul intact. Calibrul vaselor din acest sector este puternic modificat prin compresiunea mecanică din cursul contracţiei miocardice. Rezistenţa vasculară coronariană prezintă largi variaţii în cursul ciclului cardiac fiind afectată indirect de modificările de frecvenţă cardiacă şi ale presiunii arteriale. De altfel, şi metodele de determinare ale fluxului sanguin coronarian sunt limitate din punct de vedere al acurateţei rezultatelor obţinute pe organismul întreg [218].

Fluxul sanguin în acest teritoriu poate fi determinat mult mai simplu pe cordul izolat şi perfuzat. În aceste condiţii, angiotensina determină sistematic scăderea fluxului coronarian pe inima de iepure [37, 38, 39], cobai [28, 39] şi pisică [219]. Încercând să menţină în limite constante travaliul cardiac, Downing şi Sonnenblick au utilizat preparate în care frecvenţa cardiacă, debitul şi presiunea arterială fiind constante, angiotensina exercită efecte bifazice [30]. După o scădere iniţială tranzitorie, fluxul sanguin coronarian creşte semnificativ. Pe un preparat

Scanned with OKEN Scanner

similar, Meier şi colab. au observat creşterea fluxului sanguin coronarian paralel cu răspunsul presor sistemic [37]. Când acest răspuns este împiedicat să se dezvolte, debitul coronarian scade. Rezultatele au fost confirmate ulterior de Drimal şi colab. [49]. Pe animale anesteziate, cu torace deschis, fluxul sanguin în coronare, determinat fie cu rotametrul Shipley – Wilson, fie cu un flowmetru electromagnetic, este întotdeauna redus de angiotensina administrată intracoronar [39, 44, 220,]. Dozele mici reduc debitul coronarian în timp ce dozele mari îl măresc.

Efectele coronariene ale angiotensinei pot varia şi în funcţie de specie. Prin metoda captării Rb86 s-a demonstrat creşterea debitului coronar când se administrează peptidul la şobolani anesteziaţi [74, 217]. Cu aceeaşi tehnică, la câini se observă absenţa oricărui efect [221]. Menţinerea constantă a debitului coronar a fost observată la câini şi în condiţiile utilizării altor tehnici de diluţie a unui indicator (oxid de azot, Kr^{85}, termodiluţie). Faptul că debitul se menţine în condiţiile unui răspuns presor sistemic a fost explicat prin creşterea rezistenţei vasculare coronare [49, 78].

La om, efectele coronariene ale angiotensinei au fost urmărite la pacienţi în cursul intervenţiilor chirurgicale cu torace deschis. Măsurând fluxul sanguin coronar cu ^{131}I iodantipirină ca indicator, Mueller şi colab. au semnalat creşterea atât a fluxului sanguin, cât şi a rezistenţei coronariene [83].

2.3.2.5.4. Circulaţia splahnică

Determinările fluxului sanguin splahnic bazate pe principiul lui Fick au demonstrat la om scăderea fluxului sanguin şi creşterea rezistenţei vasculare. Nu s-a putut însă stabili dacă sediul preferenţial al creşterii rezistenţei vasculare este circulaţia mezenterică sau cea hepatică [54]. Administrarea de angiotensină reduce fluxul sanguin atât la normali, cât şi la cirotici [58].

La maimuţele *Rhesus* neanesteziate, angiotensina reduce mai ales fluxul sanguin hepatic şi mezenteric determinat cu ajutorul tehnicii microsferelor marcate [80].

Barer a semnalat scăderea marcată a fluxului sanguin în venele mezenterice de pisică [220]. Scholtholt şi Shiraishi au observat la câine scăderea fluxului sanguin în artera hepatică, asociată cu creşterea presiunii în venele hepatice [222]. Pe circulaţie mezenterică izolată, angiotensina este cel mai puternic vasoconstrictor [141]. Mc Cubbin şi colab. au arătat că efectul se localizează la nivelul arterelor mici şi este redus la nivelul venelor mezenterice [223]. Teritoriul mezenteric superior la câine este mai sensibil la acţiunea peptidului [48]. Pe preparate de ficat bovin izolat şi perfuzat *in vitro*, angiotensina măreşte tranzitoriu atât presiunea arterială, cât şi pe cea venoasă [224].

Scanned with OKEN Scanner

Există şi date contradictorii cu privire la aceste efecte pe şobolani anesteziaţi. În unele cercetări fluxul sanguin intestinal a scăzut [74, 217] sau nu s-a modificat [200]. Fluxul sanguin hepatic fie că a fost găsit crescut [74], fie că nu s-a modificat [217].

La nivelul splinei, angiotensina măreşte uşor fluxul sanguin la şobolani [200], dar îl reduce la pisică [225].

2.3.2.5.5. Circulaţia cerebrală

Datele cu privire la efectele angiotensinei asupra teritoriului cerebrovascular se pot grupa în două categorii. O parte tinde să demonstreze faptul că angiotensina reduce fluxul sanguin cerebral, în timp ce altele aduc argumente în favoarea unei creşteri a irigaţiei.

Studiile în care aplicarea angiotensinei determină reducerea debitului cerebral reprezintă majoritatea. Astfel, deşi angiotensina creşte fluxul sanguin în carotida internă de câine ca urmare a efectului presor sistemic, debitul arterei bazilare în teritoriul aferent nu se modifică [226]. La iepuri neanesteziaţi, angiotensina creşte rezistenţa în teritoriul carotidei interne în timp ce noradrenalina acţionează selectiv asupra teritoriului carotidei externe. Eliminând efectul presor sistemic cu un stabilizator mecanic, s-a putut evidenţia direct creşterea rezistenţei şi scăderea fluxului sanguin în carotida internă de câine [48]. La om, în cursul infuziei de angiotensină fluxul sanguin în carotida internă nu se modifică, dar rezistenţa vasculară calculată creşte [227]. Datele au fost reproduse şi pe maimuţă [80].

Există şi unele cercetări mai vechi, care evidenţiază din contră, creşteri ale fluxului sanguin cerebral. La pisica neanesteziată, deşi angiotensina determină constricţia vizibilă a arteriolelor piale, fluxul sanguin carotidian este tranzitoriu crescut [220, 228]. Este posibil ca această creştere să fie consecinţa reacţiei presoare generale.

O observaţie interesantă, dar încă neconfirmată, este cea efectuată de Mandel şi Sapirstein după care angiotensina în doze subpresoare măreşte fluxul sanguin cerebral la şobolani anesteziaţi [200].

2.3.2.5.6. Circulaţia uterină

Pe uterul negravid de câine sau oaie angiotensina determină creşterea fluxului sanguin şi scăderea rezistenţei vasculare [188, 229]. Creşterea fluxului sanguin în uterul gravid a fost atribuită reacţiei presoare generale şi mai puţin vasodilataţiei periferice [199]. La iepuroaice şi oi gravide, studii mai recente au evidenţiat scăderea fluxului sanguin şi creşterea rezistenţei periferice [230, 231].

Scanned with OKEN Scanner

2.3.2.5.7. Circulaţia musculaturii scheletice

Încercările de a determina specific fluxul sanguin şi rezistenţa vasculară într-un teritoriu muscular dat, s-au lovit de dificultatea de a discerne efectele circulatorii cutanate şi osoase de cele musculare ale angiotensinei administrată la nivelul unei extremităţi. Determinările realizate cu ajutorul tehnicii de diluţie a unui indicator nu au evidenţiat afectarea fluxului sanguin muscular la şobolan [217] sau maimuţe [80]. La om, fluxul sanguin muscular a fost calculat ca reprezentând diferenţa dintre fluxul total al antebraţului şi fluxul sanguin cutanat [59]. În aceste condiţii, administrarea sistemică de angiotensină determină scăderea rezistenţei vasculare şi creşterea irigaţiei muşchilor. Faptul că această modificare coincide cu o marcată vasoconstricţie renală determină probabil o redistribuire a debitului cardiac în favoarea teritoriului muscular.

2.3.2.5.8. Circulaţia cutanată

Cercetările iniţiale privind acţiunea angiotensinei asupra teritoriului vascular cutanat evidenţiau creşterea uşoară a fluxului sanguin la şobolanii anesteziaţi [74]. Acest efect este probabil secundar reacţiei presoare generale determinată de peptid. Majoritatea cercetărilor în această direcţie evidenţiază, dimpotrivă, apariţia la om a unei vasoconstricţii manifestate prin scăderea temperaturii şi a fluxului sanguin cutanat [59, 127, 188, 232]. Datele au fost confirmate şi pe maimuţe neanesteziate [80].

2.3.2.6. ACŢIUNI NERVOASE CENTRALE ŞI PERIFERICE CU RĂSUNET CIRCULATOR

Răspunsul hemodinamic la eliberarea sau administrarea de angiotensină cuprinde o importantă componentă neurogenă. Efectele locale, directe, ale peptidului asupra receptorilor tisulari sunt frecvent asociate unor acţiuni la nivelul structurilor nervoase centrale şi periferice. Din interferarea celor două tipuri de acţiuni rezultă în numeroase cazuri reacţia cardiocirculatorie complexă declanşată de această substanţă vasoactivă. Cunoaşterea componentei neurogene prezintă o importanţă deosebită mai ales în situaţia implicării sistemului în geneza hipertensiunii arteriale.

2.3.2.6.1. Efecte cardiovasculare ale angiotensinei II declanşate prin mecanism central

Încă de la începuturile cercetărilor sistemului renină-angiotensină s-a emis ipoteza că renina ar putea acţiona nu numai local, ci şi prin intermediul sistemului nervos autonom. La această concluzie au ajuns Scarff şi Martin după ce au observat că efectul presor al reninei este mult diminuat în cursul anesteziei generale la animal [233]. Cercetările ulterioare în care

Scanned with OKEN Scanner

efectul presor al injectării de angiotensină în carotida internă nu era mai mare decât cel observat după injectarea intravenoasă, păreau să excludă această ipoteză [234].

Observaţiile efectuate pe cap de câine izolat şi perfuzat de un animal donator au început să aducă dovezi în favoarea unor acţiuni cardiovasculare de origine centrală.

Injectarea de angiotensină în cantităţi mari (1–2 μg/kg) în circulaţia cerebrală a capului izolat a determinat dezvoltarea unui răspuns presor în trunchiul animalului primitor. Deoarece acest răspuns a putut fi abolit cu un agent alpha-simpatolitic (piperoxan), s-a ajuns la concluzia că angiotensina ar stimula porţiunea centrală a sistemului nervos simpatic [235]. Acest efect a fost obţinut în cercetări independente şi de Benetato şi colab. pe circulaţia încrucişată şi perfuzia extracorporală a capului izolat de câine. Administrarea intracarotidiană de angiotensină (1–4 μg/kg) a deter-minat răspunsuri presoare ce puteau fi abolite sau chiar inversate prin pretratare cu rezerpină. Efectul presor putea fi restabilit prin infuzie centrală de noradrenalină şi nu era afectat de clorpromazină. Reacţia a fost considerată ca rezultând din stimularea structurilor nervoase adrenergice cu localizare bulbară.

Utilizând perfuzia extracorporală a sistemului nervos central la pisică anesteziată cu cloraloză, Barret şi colab. au observat creşteri semnificative ale presiunii arteriale sistemice în condiţiile administrării de angiotensină (0,5 μg /ml) combinată cu deaferentare prin secţiunea nervilor cranieni IX – XII [238, 239].

Cercetări aprofundate în această direcţie au arătat că efectul central al angiotensinei nu se corelează în timp cu răspunsul la hipoxie şi nu este produs de administrarea centrală a altor substanţe vasopresoare [24, 237]. Efectele angiotensinei nu au fost alterate de denervarea sinusului carotidian.

La animalele anesteziate cu barbiturice, răspunsul presor la angiotensină în administrări centrale, este mult redus sau chiar abolit. Aceasta ar explica imposibilitatea evidenţierii efectelor hemodinamice după administrarea centrală a peptidului semnalată într-o serie de cercetări anterioare [151, 241, 242, 243].

Studiile efectuate pe animale neanesteziate au confirmat datele obţinute de Page şi Bumpus, Benetato şi colab. pe cap izolat [234, 236].

Infuzia de angiotensină în doze mici în artera vertebrală la iepure neanesteziat determină creşteri ale presiunii arteriale de 10 – 15 ori mai mari decât în cazul administrării intravenoase [136, 242, 244, 245, 246, 247]. Pe baza faptului că efectul presor este progresiv şi se însoţeşte uneori de convulsii, Dickinson a emis ipoteza intervenţiei Ang II în acest caz în

Scanned with OKEN Scanner

procesele de reglare de durată a presiunii arteriale, în funcţie de gradul de constricţie al arterelor cerebrale. Şi în acest caz, răspunsurile par a fi de natură adrenergică, întrucât sunt prevenite prin administrarea agenţilor adreno-blocanţi.

Ulterior s-au putut evidenţia efectele presoare centrale ale angiotensinei administrate în artera vertebrală la ogari [248] şi la câini de rasă nedefinită [249] anesteziaţi cu morfină şi cloraloză. Răspunsul presor este sistematic mai mare decât în administrări intravenoase, pragul şi latenţa fiind extrem de scăzute [221]. Rapiditatea apariţiei răspunsului presor exclude posibilitatea unui efect hipoxic ce apare abia după două minute. Este interesant de notat faptul că există diferenţe între răspunsul presor la câini de rasă nedefinită în comparaţie cu cel obţinut la ogari. În primul caz creşterea presiunii se datorează unei creşteri de natură simpatică a rezistenţei periferice cu modificări minime ale activităţii cardiace [250]. În cazul ogarilor selecţionaţi pentru rezistenţă la efort, hipertensiunea apare prin creşterea ritmului şi forţei de contracţie cardiace şi este în bună parte abolită prin vagotomie. Reacţia restantă după vagotomie poate fi total eliminată prin blocaj adrenergic [221]. Având în vedere faptul că şi cordul uman este dominat de vag, aceste date ar putea avea importanţă la om. Injectarea de angiotensină (1–2,5 μg) în artera vertebrală la om determină răspunsuri presoare mai mari decât în cazul injectării intraaortice. În prima situaţie se obţine tahicardie, iar în a doua bradicardie [251]. Datele obţinute pe om lasă să se presupună că efectele cerebrale ale angiotensinei ar putea fi implicate în geneza hipertensiunii esenţiale [252].

Tabelul 2.5. încearcă să reunească datele obţinute cu privire la efectele infuzării de angiotensină în circulaţia cefalică.

Efectele hipertensive centrale ale angiotensinei au fost observate şi în cazul administrării peptidului în ventriculii cerebrali. Studiile sunt unanime în a considera injectările în spaţiul subarahnoidian ca fiind lipsite de efect chiar în cazul unor doze foarte mari (peste 10 μg) [39, 253, 255]. Administrările intraventriculare dau posibilitate peptidului să abordeze zonele active, sensibile şi permit apariţia unui răspuns presor în majoritatea cazurilor. Acest răspuns a fost observat la diferite specii (câine, pisică, iepure, şobolan şi capră) şi este de natură centrală fiind abolit prin transsecţiune medulară la pisică şi câine. Creşterile presionale sunt mai mari decât cele obţinute prin injectarea aceloraşi doze i.v. Blocajul ganglionar şi hipofizectomia abolesc aceste efecte.

Numeroase cercetări au încercat să rezolve şi problema zonei la nivelul căreia acţionează angiotensina în vederea declanşării efectelor cardiocirculatorii de tip central. Mezencefalul, aria postrema din bulb şi hipotalamusul sunt considerate astăzi ca sedii posibile ale acţiunii presoare centrale exercitată de peptid.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 6.1. Sistemul renină-angiotensină-aldosteron în patologia cardiovasculară

Autor	Specie/Nr. animale	Doză	Răspuns presor (mm Hg)	Observații
Administrare subarahnoidiană				
Rosendorff şi colab. 1970	Iepure [2]	115 ng	0	
	Câine (?)	7 mg/kg	0	
Bianchi şi colab., 1968	Câine (3)	20 g	0	
Sever şi colab., 1967				
Administrare intraventriculară				
Sever şi colab., 1971	Şobolan (12)	1 ng	19	Efectul blocat de hexamethoniu central şi potențat de hexametoniu periferic
	(5)	10 ng	24	
	(8)	25 ng	27	
	(6)	100 ng	30	
	(8)	500 ng	34	Efect blocat de hipofizectomie şi blocaj ganglionar
	(8)	1000 ng	39	Angiotensina eliberează ADH
Sever şi colab., 1971	Şobolan (80)	500 ng	30	Fentolamina şi anestezicele locale intraventriculare blochează efectele
Andersson şi colab., 1971	Capră (4)	0,8 ng/kg/min.	20	Efectul este maxim la administrarea intraventricular III şi se corelează cu efectul antidiuretic şi natriuretic
Nashold şi colab., 1962	Pisică (?)	10 000 ng?	?	Transecțiunea mezencefalică la nivelul colicului superior aboleşte efectul
Sever şi colab., 1966, 1967	Pisică (27)	4 000 ng	50–75	Răspunsul nu apare când ventriculul IV este exclus Injectarea directă în hipotalamusul posterior nu induce efecte. Răspunsul este de natură simpatică. Injectarea directă în apeductul terminal nu are efecte. Mecanismele bulbare sunt improbabile.

Scanned with OKEN Scanner

Smookler şi colab., 1966	Pisică (2)	5 ng	3	Se produce hipertensiune cu tahicardie.
	(5)	10 ng	14	Efectele blocate prin transecțiunea măduvei la C1
	(5)	50 ng	15	Modificarea concentrației de noradrenalină cerebrală reduce răspunsul.
	(4)	100 ng	34	
	(3)	500 ng	36	
	(28)	2 000 ng	36	
Daniels şi Buckley, 1968	Pisică (36)	4 000 ng	54	Răspunsul este reproductibil la același animal. LCR hipocalcemic inhibă acțiunea presoare.
Hageman, 1969	Pisică (18)	750–3000 ng	25–35	Pyr(3) Ala^6 – Ang II determină 48% din efectul central al Ang II
Deuben şi Buckley, 1970	Pisică (12)	4 000 ng	40	Efectul central s-ar produce prin subnucleus medialis.
Rosendorff şi colab., 1970	Iepure (7)	115 ng	20	Doze egale succesive, chiar la 1 oră interval, determină răspunsuri descrescânde. Pragul efectului central este mult scăzut față de cel obținut i.v.
Bianchi şi colab., 1960	Câine (?)	5–10 000 ng/kg	?	La animale vagotomizate şi atropinizate apare un uşor efect tahicardizant. Anestezie cu morfină–fenobarbital. Răspunsul la ocluzia carotidiană scade cu 26% după injectare. Frecvența cardiacă şi presiunea nu sunt afectate.
Sever şi colab., 1967	Câine (4)	4 000 ng	59	Efecte abolite după transsecția măduvei cervicale.
Cuparencu şi colab., 1971	Câine (4)	60–120 ng/kg	20–60	Efecte presoare nesemnificative. Activitatea angiotensinazică mare în LRC şi țesut nervos. Reacțiile la acetilcolină, adrenalină, stimulare vagală, ocluzia carotidelor, EEG şi respirație nemodificate.
Gildenberg şi colab., 1973	Câine (7)	186 ng	21	Efect blocat de transsecțiunea mezencefalică, neafectat de ablația ariei postrema.

Scanned with OKEN Scanner

În favoarea rolului jucat de mezencefal, pledează dispariţia răspunsului presor periferic după transsecţiunea spinală cervicală, după secţiune pontobulbară şi electroliza mezencefalului anterior [253, 254]. Injectarea intrahipotalamică şi aplicarea peptidului pe cortexul parieto-occipital nu modifică presiunea arterială [256]. Canularea apeductului Sylvius sau aplicarea angiotensinei la ieşirea din apeduct nu dau efecte presoare. Deuben şi Buckley au demonstrat, prin perfuzie ventriculo-cisternală la pisică, faptul că efectul presor se obţine prin injectarea în apeduct într-un punct situat cu 6 mm înaintea planului 0 al lui Horsley–Clarke [257]. Injectările într-un punct situat cu 2 mm posterior au efect semnificativ redus. Aceste date sugerau localizarea zonei active în subnucleul medialis a cărui lezare determină de altfel dispariţia răspunsului presor.

Injectarea stereotaxică de angiotensină în alţi nuclei cardio-vasculari mezencefalici (nucleul tegmental profund al lui Olszewski – Baxter) nu a declanşat modificări presionale.

Aria postrema pare a fi zona bulbară presoare cea mai sensibilă la angiotensina administrată în artera vertebrală. Injectările simultane de albastru de tripan au arătat că răspunsul presor nu se produce decât atunci când colorantul pătrunde şi la nivelul acestei zone bulbare [258]. De altfel, absenţa barierei hematoencefalice la nivelul ariei postrema face extrem de probabilă pătrunderea peptidului la acest nivel. Secţiunea măduvei cervicale afectează răspunsul care nu este însă alterat de transecţiunile mezencefalice [249]. Acest fapt este adesea utilizat ca argument împotriva unei localizări mezencefalice a efectului presor central. Lezarea ariei postrema aboleşte definitiv răspunsul central obţinut prin angiotensina administrată în artera vertebrală şi reduce efectul presor al angiotensinei administrate i.v. [258]. Efectul presor al noradrenalinei i.v. nu este afectat în aceste condiţii [259]. Răcirea locală a ariei inhibă reversibil răspunsul presor. Injectarea directă de angiotensină în aria postrema determină activitate presoare, iar unităţile din această zonă sunt activate de angiotensina administrată intracerebral la pisica anesteziată [251]. Gildenberg şi colab. au demosntrat pe câine faptul că atât mezencefalul, cât şi aria postrema sunt implicate în răspunsul presor central la angiotensină [260]. Activarea lor depinde de calea de administrare.

Administrarea intraventriculară activează mezencefalul, în timp ce administrarea în artera vertebrală activează aria postrema. Posibilitatea ca hipotalamusul să joace un rol în răspunsul presor central determinat de angiotensină nu este încă suficient argumentată. Datele obţinute în acest sens sunt relativ controversate.

Scanned with OKEN Scanner

Efectele presoare centrale ale angiotensinei II sunt astăzi considerate ca datorându-se probabil unei creşteri a descărcărilor pe aferenţele vasoconstrictoare simpatice. Jucând rol chemoreceptor, aria postrema ar reduce acţiunea inhibitorie exercitată prin căile baroreceptoare reflexe asupra neuronilor vasoconstrictori bulbari [249, 263,]. Administrarea sistemică de angiotensină la animale cu un segment vascular izolat, dar cu inervaţia intactă, determină creşterea presiunii în segmentul respectiv fără ca peptidul să ajungă în zonă. Acest fapt a fost observat în teritoriul arterei mezenterice şi femurale de pisică, precum şi pe trenul posterior de şobolan [238, 264, 265]. Angiotensina măreşte activitatea electrică a nervilor renali, splahnici şi cardiaci inferiori la câine [266, 267]. Acelaşi efect a fost evidenţiat pe nervii renali la iepure [268].

Faptul că efectele centrale ale angiotensinei s-ar realiza prin mecanism adrenergic este argumentat şi de corelaţia dintre concentraţiile de angiotensină şi cele de noradrenalină găsite în diferite zone cerebrale, precum şi de inhibiţia efectelor centrale în absenţa calciului [269]. În acelaşi sens pledează şi observaţiile realizate la câini trataţi cu 6-hidroxidopamină la care răspunsul presor la angiotensină II scade proporţional cu depleţia de noradrenalină [270].

Activarea sistemului simpatico-adrenergic de către elementele sistemului renină-angiotensină s-ar realiza prin două mecanisme generale:

– unul implică efectele angiotensinei II circulante (sistemice) asupra sistemului nervos central;

– cel de al doilea incriminează acţiunile angiotensinei II de origine encefalică asupra diverselor structuri din sistemul nervos central.

Angiotensina II circulantă are acces la organul subfornical şi aria postrema (situsuri lipsite de barieră hematoencefalică) care conţin neuroni ce prezintă receptori specifici (AT_1) şi care prin conexiunile pe care le realizează cu nucleul tractusului solitar şi porţiunea rostrală a zonei ventrolaterale bulbare ar produce activare simpatică.

Activarea simpatică centrală, simplă, realizată prin angiotensină nu pare însă să fie unicul mod de acţiune a peptidului. În unele cazuri administrarea centrală de Ang II nu determină creşterea activităţii simpatico-adrenergice eferente ca în experimentele citate mai sus. Pentru clarificarea acestor aspecte a fost necesară realizarea unor experimente mai elaborate. O primă concluzie ce a reieşit din astfel de studii este aceea că efectul angiotensinei depinde de natura fibrelor nervoase. Astfel, pe nervul cervical superior s-a observat că angiotensina i.v. inhibă descărcările spontane [271]. În cursul administrărilor intraventriculare, însoţite de răspuns presor, apare o inhibiţie similară [272]. În schimb, administrarea Ang II în artera vertebrală declanşează creşterea descărcărilor pe acelaşi trunchi nervos, urmată uneori

Scanned with OKEN Scanner

de o inhibiţie reflexă [273]. Faptul că nervul cervical superior nu conţine decât un contingent redus de fibre vasoconstrictoare ar putea pleda în favoarea unui efect selectiv, limitat la aceste fibre. Activitatea vasoconstrictoare ar putea fi mascată de restul fibrelor [268]. Întrucât administrarea intravertebrală determină activarea trunchiului şi posibilitatea inhibării reflexe a acestui răspuns, s-ar putea ca şi restul fibrelor simpatice să fie activate. Rezultatele experimentelor destinate să evidenţieze acţiunile cardiovasculare centrale ale angiotensinei sunt modificate şi prin intervenţia mecanismelor reflexe baroreceptoare. Între aria postrema şi nucleul tractusului solitar sunt legături strânse [263], acest nucleu reprezentând principalul releu al integrării baroreceptoare aferente [274].

Studii neuroanatomice, electrofiziologice şi neurofarmacologice efectuate în ultima perioadă au scos în evidenţă că angiotensina II este implicată în funcţionarea unor circuite neuronale în cadrul reacţiilor adaptative ale organismului cu participare cardiovasculară, endocrină şi comportamentală.

S-a descris un sistem presor angiotensinergic eferent care porneşte din regiunea anteroventrală a ventriculului al treilea cerebral (AV3V), include nucleul preoptic median, organul vascular al laminei terminale (OVLT), nucleul preoptic periventricular şi parte din aria preoptică medială [297, 298]. Din anumite zone ale acestor structuri sunt transmise informaţii către organul subfornical (SFO) [299, 300], realizându-se astfel un sistem funcţional hipotalamo – organ subfornical cu implicaţii deosebite în acţiunile centrale ale angiotensinelor [301, 302, 303, 304, 305, 306]. În acest mod s-a emis ipoteza că angiotensina ar constitui neurotransmiţătorul releului organ subfornical – regiunea preoptică hipotalamică, iar organul subfornical la rândul său poate fi abordat de angiotensina circulantă (sistemică). Studii în care s-au utilizat metode combinate de imunocolorare cu transportul retrograd de trasori fluorescenţi au scos în evidenţă că în regiunile periferice ale SFO apare o zonă anulară marcată fluorescent după introducerea trasorului în nucleul median preoptic [299, 307], respectiv unele celule din SFO care proiectează în nucleul paraventricular sunt marcate cu ser antiangiotensină [308]. De asemenea, s-au pus în evidenţă fibre angiotensinergice care îşi au neuronii de origine în regiunea perifornicală din aria hipotalamică laterală şi partea adiacentă a zonei incerte, precum şi din nucleul reuniens şi care ajung tot la SFO [299].

Lind şi colab. au conceput o schemă care reuneşte datele existente în legătură cu rolul de piatră turnantă a organului subfornical în circuitele neuronale legate de controlul hemodinamicii [298] (figura 2.8.).

Se poate observa că SFO poate fi abordat atât de angiotensina sistemică întrucât această zonă este lipsită de barieră encefalică, cât şi de

Scanned with OKEN Scanner

angiotensina cerebrală sintetizată mai ales de neuroni din aria hipotalamică laterală (LHA). La rândul său SFO conţine neuroni angiotensinergici care asigură relaţii eferente angiotensinergice (cu rol de neurotransmiţător şi/sau factor neuroendocrin) cu cel puţin trei zone din nucleul paraventricular:

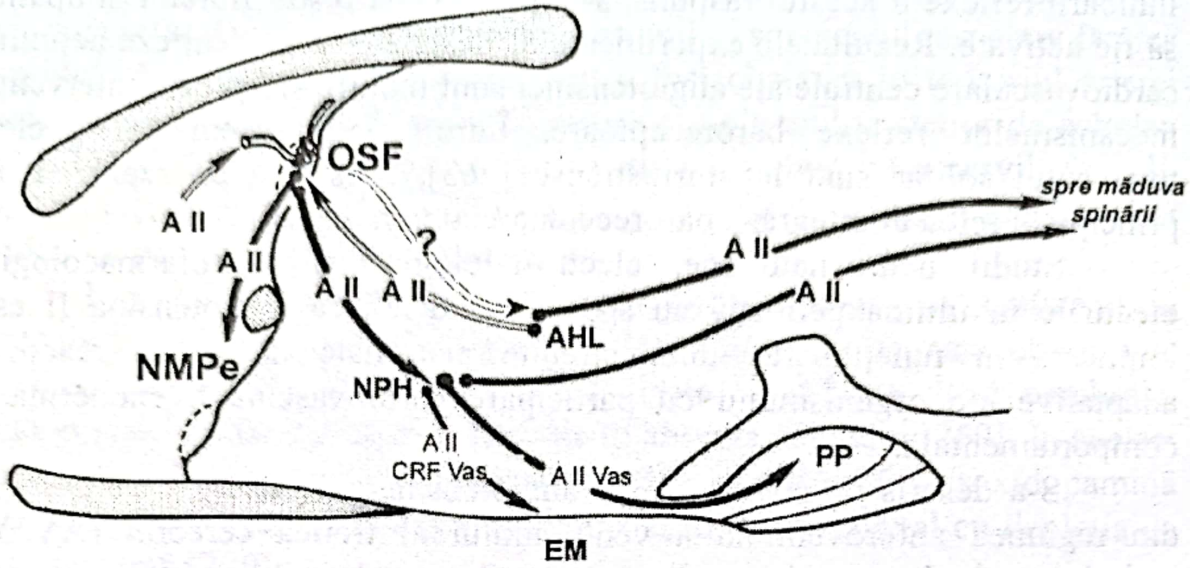


Figura 2.8. Implicaţiile organului subfornical în funcţionarea circuitelor neuronale angiotensinergice cu rol în controlul unor parametri hemodinamici [modificată după 298].
EM - eminenţa mediană;
LPM – lobul posterior hipofizar;
OSF – organul subfornical;
NMPe – nucleul median preoptic;
NPH – nucleul paraventricular hipotalamic;
AHL – aria hipotalamică laterală.

– Nucleul parvocelular care conţine neuroni ce sintetizează factorul eliberator de corticotropină dar şi vasopresină şi angiotensină la animalele suprarenalectomizate [309, 310, 311]. Or, este ştiut faptul că toate cele trei peptide stimulează eliberarea de ACTH [312].
– Nucleul magnocelular care conţine neuroni ce îşi trimit axonii în lobul posterior hipofizar. În aceşti neuroni s-a evidenţiat colocalizarea de material imunoreactiv angiotensinic şi vasopresinic [313, 314, 315].
– Al treilea tip de neuroni din SFO îşi trimit axonii în bulbul rahidian şi măduva spinării unde fac sinapsă cu neuroni simpatici.

Aria hipotalamică laterală, parte constituentă a altei căi multi-sinaptice leagă SFO cu alte structuri neuronale. La nivelul fiecărei sinapse din acest circuit transmiterea informaţiei se realizează prin intermediul angiotensinei. Astfel, s-au pus în evidenţă fibre angiotensinergice aparţinând

Scanned with OKEN Scanner

neuronilor din partea perifornicală a ariei hipotalamice laterale ce fac sinapsă cu neuroni din SFO, care la rândul lor îşi trimit axonii în măduva spinării (neuroni simpatici preganglionari din coloana intermedio-laterală) şi care au drept neurotransmiţător tot angiotensina. La rândul său SFO trimite un contigent important de proiecţii către hipotalamusul lateral perifornical, al căror neurotransmiţător nu este încă precizat.

2.3.2.6.2. Rolul nucleilor supraoptic şi paraventricular în funcţionarea circuitelor neuronale angiotensinergice implicate în controlul activităţii cardiovasculare

Studii anatomice şi electrofiziologice au evidenţiat proiecţiile eferente ale SFO în nuclei hipotalamici supraoptic (SON) şi paraventricular (PVN) care influenţează excitabilitatea neuronilor secretori de vasopresină din aceşti nuclei [300, 317, 318].

În nucleul paraventricular s-a descris şi o populaţie de neuroni care proiectează direct în centrii cardiovasculari bulbo-pontini. Peste 60 % dintre aceşti neuroni care au legături cu centrii cardiovasculari sunt activatori prin stimularea electrică a SFO [319] şi doar o mică parte de către Ang II sistemică. O anumită proporţie din neuronii paraventriculari respectivi primesc impulsuri şi de la baroreceptorii carotidieni [320].

Neuronii magnocelulari secretori de vasopresină din hipotalamus sunt influenţaţi în activitatea lor nu numai de către Ang II circulantă, ci şi de impulsuri provenite de la baroreceptori, chemoreceptori şi din alte zone cu implicaţii în activitatea cardiovasculară [321].

Angiotensina II circulantă acţionând asupra unor organe circumventriculare declanşează activarea unor circuite neuronale angiotensinergice care stimulează neuronii magnocelulari (MNCs) din SON şi PVN secretori de vasopresină şi ocitocină (figura 2.9.).

Baroreceptorii din sistemul circulator, sub acţiunea variaţiilor presiunii arteriale, influenţează activitatea circuitelor care includ nucleul tractusului solitar (NTS), locus coeruleus (LC), nucleul parabrahial (PBN) şi banda diagonală Broca (DBB), care prin intermediul unor interneuroni din zona perinucleară (PNZ) vor modula activitatea secretorie a MNCs. De la nivelul chemoreceptorilor se poate modula activitatea MNCs întrucât aceştia sunt incluşi în circuite ce includ NTS, porţiunea caudală a ariei ventrolaterale bulbare şi SON şi PVN. În aceste lanţuri neuronale în afara Ang II, transmiterea informaţiilor se realizează prin intermediul acidului gamaaminobutiric (GABA), noradrenalinei (NE) şi a neuropeptidului Y (NPY).

Scanned with OKEN Scanner

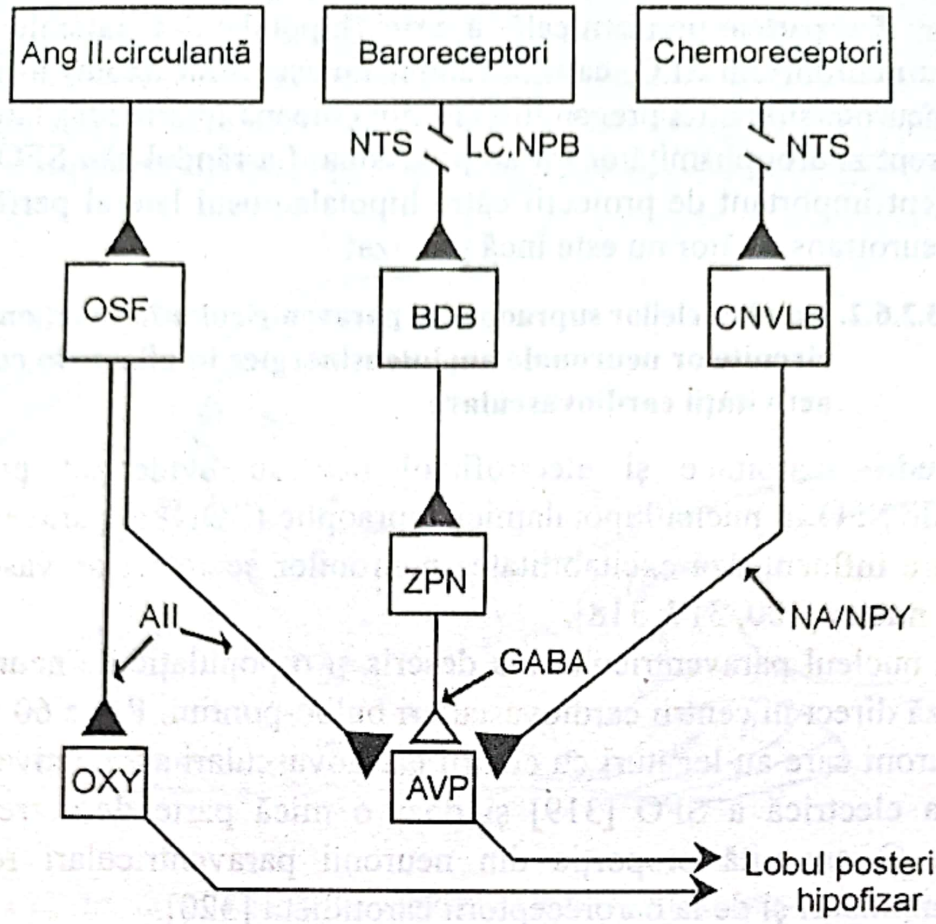


Figura 2.9. Reprezentarea schematică a interrelațiilor dintre nucleii hipotalamici supraoptic și paraventricular cu anumiți senzori ai activității cardiovasculare [modificat după 321].

OSF – organul subfornical;
OVLT – nucleul vascular al laminei terminale
NTS – nucleul tractusului solitar;
LC – locus coeruleus;
NPB – nucleul parabrahial;
BDB – banda diagonală Broca;
CNVLB – porțiunea caudală a nucleului ventrolateral bulbar;
ZPN – interneuroni din zona perinucleară.

Studii electrofiziologice au pus în evidență cel puțin două tipuri de neuroni: unii care descarcă fazic, iar alții prezintă o activitate bioelectrică continuă. Acești neuroni încetează instantaneu, dar tranzitoriu activitatea ca urmare a creșterii presiunii arteriale, în schimb inițiază prompt descărcări de biopotențiale ca urmare a stimulării chemoreceptorilor [322, 323].

La nivelul nucleului supraoptic Ang II stimulează atât neuronii care descarcă fazic, cât și cei care nu descarcă fazic [324]. Întrucât neuronii fazici secretă vasopresină, iar cei nonfazici secretă fie ocitocină fie vasopresină s-a tras concluzia că Ang II stimulează probabil atât secreția de vasopresină, cât și de ocitocină, deși semnificația fiziologică a acestui ultim efect nu este înțeleasă.

Scanned with OKEN Scanner

Grupul condus de Fuxe a pus în evidenţă la nivelul SON terminaţii nervoase care conţin Ang II şi chiar neuroni Ang II – imunoreactivi [325]. În aceste condiţii se interpretează că Ang II din terminaţiile nervoase respective ar acţiona direct asupra receptorilor specifici de la nivelul neuronilor din SON cu rol de neurotransmiţător sau neuromodulator determinând eliberarea de vasopresină şi ocitocină din neurohipofiză. Este posibil însă ca neuronii angiotensin – imunoreactivi din SON să secrete Ang la nivelul colateralelor axonilor lor sau la nivelul dendritelor şi să realizeze un feed – back pozitiv asupra propriilor neuroni sau asupra neuronilor din vecinătate. În legătură cu acest ultim aspect este necesar să se menţioneze că eliberarea de neurotransmiţători la nivelul dendritelor a fost propusă pentru dopamină în locus niger [326] şi pentru ocitocină în SON [327].

Efectul de scurtă durată a Ang II la nivelul SON îi conferă peptidului calitatea de mediator chimic sau de neuromodulator în această structură.

Nu trebuie să surprindă faptul că rinichiul, organ la nivelul căruia vasopresina are ponderea cea mai mare de acţiune, reprezintă o vastă şi în acelaşi timp diversă arie care poate să influenţeze activitatea SON şi PVN şi la rândul său PVN să fie implicat în reglarea secreţiei de renină la nivelul rinichiului.

Rinichiul de mamifer conţine într-adevăr tipuri distincte de receptori sensibili la variaţiile presiunii sângelui în arterele şi venele renale, a presiunii intraureterale, dar şi chemoreceptori care sesizează ischemia renală sau modificarea conţinutului ionic interstiţial [328]. Aceşti receptori descarcă impulsuri ce sunt conduse la nivelul SNC, iar stimularea selectivă a fibrelor senzitive renale modifică activitatea unor regiuni neuronale hipotalamice şi din trunchiul cerebral cu rol în controlul activităţii cardiovasculare [329, 330].

Stimularea nervilor aferenţi renali induce modificarea reflexă a tonusului simpatic şi presiunea arteriolară. Astfel, s-a sugerat că aceştia ar avea o importanţă deosebită în declanşarea şi menţinerea anumitor forme de hipertensiune arterială experimentală [331, 332]. Cum vasopresina este implicată în patogenia unor forme de hipertensiune arterială experimentală s-a sugerat eventualitatea ca secreţia acestui peptid de către neuronii hipotalamici să poată fi influenţată de aferenţe provenite de la nivelul rinichiului. Într-adevăr, studii electrofiziologice întreprinse de Day şi Ciriello [328] au demonstrat că informaţii aferente pornite de la nivelul rinichiului ar contribui la activarea unor căi reflexe prin care rinichiul influenţează secreţia de vasopresină participând astfel la realizarea mecanismelor homeostatice ce intervin în controlul presiunii arteriale şi volumului lichidelor din organism.

Scanned with OKEN Scanner

Nucleul paraventricular este implicat în mod direct şi în mecanismele nervoase care reglează secreţia renală de renină. Astfel, sub influenţa informaţiilor aferente provenite de la nivelul aparatului cardiovascular prin intermediul nucleilor din trunchiul cerebral, PVN ar produce pe calea proiecţiilor sale descendente modificarea descărcărilor simpatice renale. În acest context stimularea electrică a PVN la şobolan realizează o creştere selectivă a activităţii reninei plasmatice [333].

2.3.2.6.3. Participarea organelor circumventriculare la funcţionarea circuitelor angiotensinergice centrale implicate în controlul hemodinamicii

Organele circumventriculare (OCV) sunt structuri care permit hormonilor hipotalamici de natură peptidică să părăsească creierul, dar în acelaşi timp dau acces substanţelor din sânge care nu pot traversa bariera hematoencefalică către ţesutul cerebral. La mamifere OCV sunt reprezentate de eminenţa mediană şi neurohipofiza adiacentă, organul vascular al laminei terminale (OVLT), organul subfornical (SFO) şi aria postrema. Organul subcomisural deşi nu prezintă caracteristicile morfofuncţionale (capilare fenestrate şi permeabilitate ridicată) întâlnite la OCV este considerat ca o structură implicată în patogenia hipertensiunii arteriale produsă prin acţiunea aldosteronului la nivel cerebral [334].

Organul subfornical este o formaţiune emisferică care protruzionează în ventriculul trei cerebral. Este situat în porţiunea rostrodorsală a acestei cavităţi la nivelul orificiului interventricular, între ramificaţiile plexului coroid.

Porţiunea centrală conţine neuroni şi o reţea capilară înconjurată de un spaţiu larg de ţesut conjunctiv ce se extinde într-o bogată tramă de fibre nervoase din jur, dând acces facil substanţelor din sânge către receptorii neuronali după ce au traversat endoteliul capilar. Deci, neuronii din structura SFO au proprietăţi de receptori şi sunt în contact intim atât cu tanicite, cât şi cu celule gliale [335].

Regiunea ventrală a SFO se expune lichidului cefalorahidian prin intermediul celulelor ependimare care dau posibilitate constituenţilor acestei umori să abordeze această formaţiune.

Organul subfornical reprezintă o structură prototip pentru mecanismele de integrare neuro-umorală întrucât organizarea sa morfologică este optimă pentru a detecta stimuli sanguini, dar şi pentru că primeşte şi integrează mesaje nervoase şi în acelaşi timp proiectează informaţii către alte structuri cerebro – spinale [336].

Din punct de vedere embriologic SFO derivă din ependimul telencefalic la nivelul locului de unire a tele coroidea şi lamina terminalis. La acest nivel converg arterele subfornicală, coroidală anterioară şi coroidală posterioară care irigă atât SFO, cât şi plexul coroid al ventriculului

Scanned with OKEN Scanner

III cerebral. În acest mod SFO reprezintă un punct de contact comun pentru lamina terminalis, septumul, hipocampus, plexul coroid al ventriculilor cerebrali (laterali şi al III-lea) şi lichidul cefalorahidian intraventricular.

Fitzsimons, Severs şi colab. sunt pionierii cercetărilor legate de interrelaţiile Ang II administrată în ţesutul cerebral, dipsogeneză şi hipertensiunea apărută la şobolani indemni [337, 338, 339]. Efectul presor apărut în aceste circumstanţe fiind atenuat prin administrare de hexametoniu, hipofizectomie şi lezarea nucleului supraoptic, iar Simpson şi Routtenberg au deschis era studiilor privind rolul SFO în mecanismele de control al hemodinamicii [340, 341, 342].

Studii ulterioare au scos în evidenţă că patul capilar al SFO este foarte dens şi cu permeabilitate ridicată, particularităţi care conferă acestei structuri sensibilitate deosebită faţă de compoziţia chimică a sângelui care îl irigă. Endoteliul capilarelor SFO prezintă numeroase vezicule şi fenestraţii [343], iar la nivelul joncţiunilor interendoteliale se realizează adevărate canale prin care substanţe solvite în plasma pot să difuzeze în organ.

Celulele ependimare ale SFO vin în contact cu terminaţii axonice, iar către spaţiul ventricular prezintă expansiuni în contact cu LCR. Aceste prelungiri funcţionează ca organite secretorii, canale transportoare sau receptori senzoriali [344, 345].

Matricea parenchimatoasă a SFO primeşte impulsuri aferente de la septum, nucleul median preoptic şi nucleul hipotalamic paraventricular şi este constituită din diferite tipuri de neuroni ce îşi trimit axonii la nucleul hipotalamic magnocelular şi la nucleul preoptic median.

Aceste particularităţi structurale îi conferă SFO substrat pentru rolul de chemoreceptor hormonal fiind o structură ideală pentru detectarea variaţiilor de concentraţii atât a substanţelor cu greutate moleculară mică, cât şi a macromoleculelor din plasma pe care le traduce în mesaje nervoase.

După cum s-a amintit, organul subfornical are şi o altă interfaţă umorală prin contactul său ependimal cu lichidul cefalorahidian. Microvilii, procese ciliare şi protruzia unor vezicule cu conţinut ale ependimului în spaţiu ventricular dau posibilitate schimburilor între cele două compartimente. Astfel, tanicitele şi spaţiile interependimare pot contribui la realizarea schimburilor între LCR şi sângele capilar.

Bogăţia de dendrite şi terminaţii axonice din structura SFO facilitează, de asemenea, contactul între LCR prin celulele ependimare şi spaţiile pericapilare. Această organizare sugerează că informaţiile neurosecretorii pot modula activitatea celulelor cu interfaţă spre celulele ependimare şi celulele endoteliale din SFO.

Conexiunile aferente şi eferente ale SFO au fost ilustrate de Gross [336] în tendinţa sa de a prezenta această structură ca un model de traductor neuroendocrin capabil să traducă mesajele nervoase şi umorale (spre exemplu,

Scanned with OKEN Scanner

Ang II) în mesaje nervoase eferente care printre alte acțiuni vor influența activitatea neurosecretoare (vasopresină) a altor nuclei (figura 2.10.).

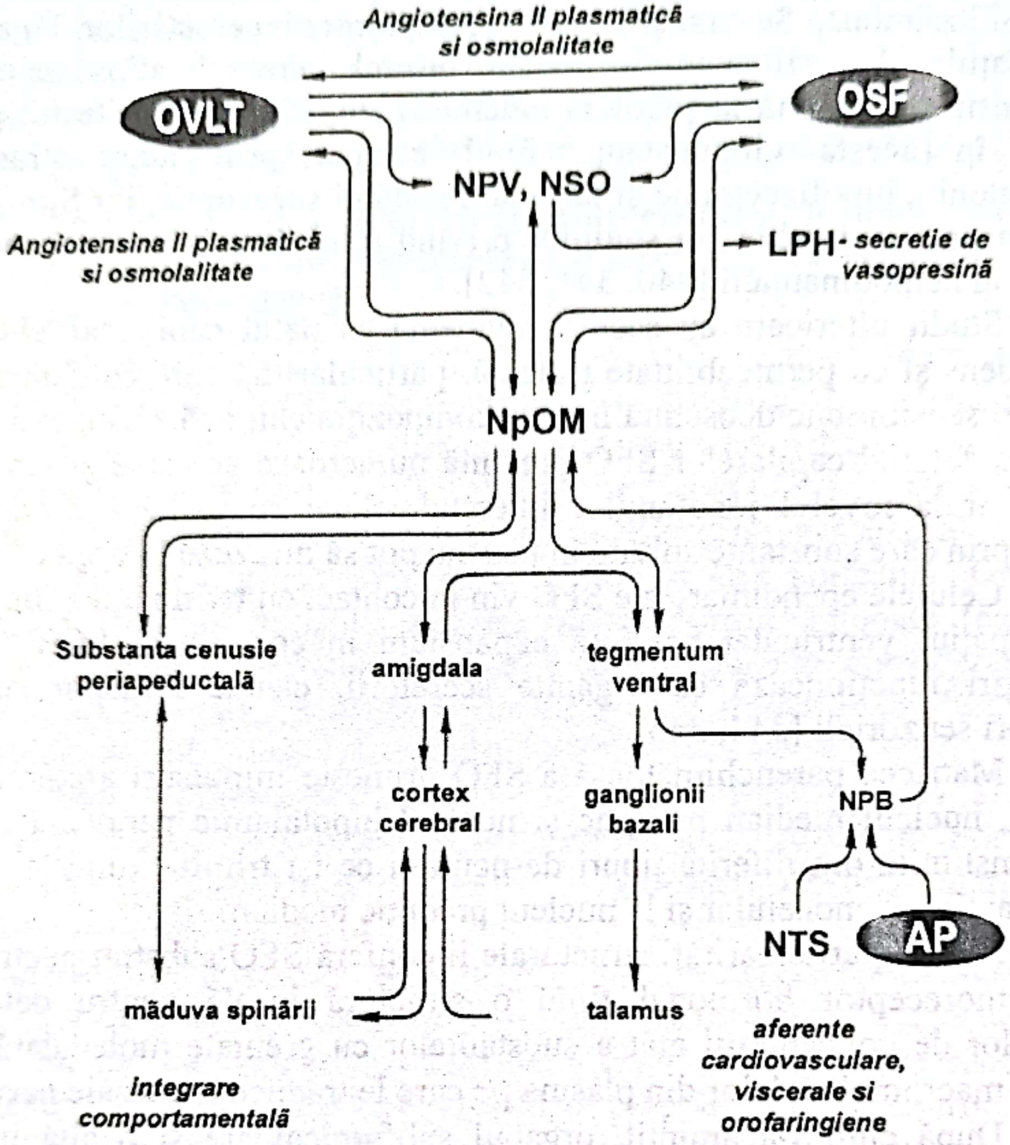


Figura 2.10. Reprezentare grafică a circuitelor neuronale cu participarea organelor circumventriculare la controlul hemodinamicii [modificat după 336].
OSF – organul subfornical; OVLT – organul vascular al laminei terminale; AP – aria postrema; NPV – nucleul paraventricular; NSO – nucleul supraoptic; NL – lobul posterior hipofizar; NpOM – nucleul preoptic median; AP – zona periapeductală; LPH – lobul posterior hipofizar; NPB – nucleul parabrahial; NTS – nucleul tractusului solitar.

Organul subfornical similar organului vascular al laminei terminale și ariei postrema conține neuroni care răspund la peptide cum ar fi angiotensina II, factorul natriuretic, relaxinul etc.

Angiotensina II în concentrație moderată stimulează neuronii situați în porțiunea centrală a SFO și regiunea laterală a OVLT. În concentrație ridicată Ang II stimulează și neuroni din regiunea periferică a SFO [346].

Scanned with OKEN Scanner

Interacţiunea Ang II cu cele două organe senzoriale circumventriculare este urmată de efecte hemodinamice rezultat al creşterii rezistenţei periferice, stimularea ingestiei de apă, secreţiei de vasopresină etc.

Procesele intracelulare declanşate de interacţiunea Ang II – receptori membranari specifici de la nivelul neuronilor din OSF şi OVLT sunt calcium – dependente. Introducerea Ang II în mediu de culturi primare cu neuroni şi astrocite prelevaţi din OSF şi OVLT este urmată de creşterea nivelului calciului citosolic atât în neuroni (19,6 %), cât şi în astrocite (15,7%). Creşterea concentraţiei calciului se realizează proporţional cu cantitatea de Ang II administrată, iar pragul declanşării acestui proces este mai mare în astrocite decât în neuroni.

Creşterea calciului intracelular este rezultatul activării receptorilor de tip AT_1 şi nu are loc dacă neuronii sunt pretrataţi cu losartan (antagonist specific de AT_1) sau dacă mediul de cultură este lipsit de calciu [347].

Organul subfornical nu este doar structură ţintă pentru Ang II circulantă sau din lichidul cefalorahidian, ci şi loc de producere a acestui peptid [348]. S-au evidenţiat la acest nivel cantităţi apreciabile de angiotensinogen, activitate renin – like, enzimă de conversie a Ang I în Ang II şi receptori de tip AT1. Studii efectuate în acest sens au arătat că Ang I injectată în OSF este convertită în Ang II, iar administrarea de captopril preîntâmpină această reacţie. Microinjectarea de Ang I în OSF a produs stimularea a 75 % din neuronii testaţi, aceştia crescându-şi rata şi durata de descărcare a potenţialelor bioelectrice. Efectul fiind blocat nu numai prin administrarea de inhibitori ai enzimei de conversie, cât şi de antagonişti ai receptorilor AT_1.

De fapt, efectele presoare ale stimulării OSF fie de Ang II circulantă, fie de origine cerebrală se datoresc activării unor circuite neuronale care în ultimă instanţă se materializează prin stimulare simpatico – adrenergică şi inhibiţia vagală.

Studii care au urmărit deplasarea anterogradă şi retrogradă a unor trasori au pus în evidenţă că OSF este legat direct de nucleii hipotalamici supraoptic (NSO) şi paraventricular (NPV), organul vascular al laminei terminale (OVLT), nucleul median şi regiunea medială a benzii diagonale septale a lui Broca (MS – DBB).

S-a observat, de asemenea, că neuronii din MS – DBB activată de către OSF trimit eferenţe către nucleii NSO şi NPV [349, 350].

Prin utilizarea peroxidazei de hrean de cal s-a pus în evidenţă că organul vascular al laminei terminale are la rândul său conexiuni atât cu unii nuceli hipotalamici (anterior, preoptic, lateral preoptic şi nucelul ventromedial), dar şi cu structuri extrahipotalamice (locus coeruleus, organul subfornical etc.). Nu s-au evidenţiat însă conexiuni cu nucelul

Scanned with OKEN Scanner

supraoptic, deşi acesta din urmă prezintă receptori specifici pentru Ang II ce sunt reglaţi de variaţii ale volumului plasmatic [351].

Stimularea selectivă a organului subfornical produce răspuns presor şi modificarea frecvenţei cardiace prin intermediul unor circuite neuronale ce implică şi nucleul paraventricular hipotalamic. Răspunsul presor apărut ca urmare a stimulării selective a OSF se desfăşoară în două etape: una cu latenţă scurtă şi a doua după o perioadă mai lungă de la producerea stimulării. Primul vârf de presiune ridicată având o latenţă foarte scurtă şi fiind inhibat prin administrare de ganglioplegice se pare că este rezultatul activării unor căi simpatice. Cel de al doilea vârf hipertensiv s-a sugerat a fi rezultat al activării unor căi umorale întrucât nu este influenţat de ganglioplegice. Întrucât suprarenalectomia bilaterală nu influenţează acest din urmă răspuns presor, iar lezarea ariilor hipotalamice secretoare de vasopresină sau a conexiunilor OSF cu aceşti nuclei îi reduc intensitatea, s-a incriminat participarea vasopresinei ca fiind responsabilă de răspunsul presor cu latenţă lungă [352].

Răspunsul presor rezultat al stimulării OSF se însoţeşte de o scădere a frecvenţei cardiace la scurtă perioadă de timp urmată de o creştere a frecvenţei după o perioadă de latenţă mai lungă. Răspunsul cardiac iniţial este interpretat ca fiind rezultat al activării baroreceptorilor, în timp ce creşterea ulterioară a frecvenţei cardiace ar putea fi mediată umoral.

Ang II circulantă participă deci, în mod direct, la activarea unor căi implicate în reglarea presiunii sanguine şi a homeostaziei hidroelectrolitice a organismului. Ca urmare a acestor acţiuni, Ang II circulantă ar putea activa şi alţi neuroni din ţesutul cerebral ca o consecinţă a creşterii presiunii sanguine care stimulând baroreceptorii arteriali ar influenţa astfel neuroni care fac parte constituentă a căilor centrale ale reflexelor baroreceptoare [353].

De fapt, regiunea anteroventrală a ventriculului trei cerebral (AV3V) conţine elemente care pot interveni în modularea sensibilităţii baroreflexe ca răspuns la variaţiile concentraţiei Ang II circulante şi de osmolaritate. Această regiune face parte din circuitele neuronale ale SNC care modulează sensibilitatea baroreflexelor cardiace ca urmare a interacţiunii cu anumite substanţe din circulaţia sanguină. Este posibil ca structura capabilă să intervină în astfel de reacţii să fie reprezentată de organul vascular al laminei terminale, structură care are şi rol în reglarea presiunii sanguine prin mecanisme simpatico – adrenergice [354].

Studii care au utilizat tehnici neuroanatomice au scos în evidenţă că nucleul paraventricular hipotalamic (NPV) intervine în controlul activităţii cardiovasculare şi prin conexiunile sale caudale. În acest context s-a evidenţiat că NPV trimite fibre vasopresinergice la nivelul nucleului

Scanned with OKEN Scanner

tractusului solitar (NTS), sediul primei sinapse a căilor baroreflexe centrale. Cum la nivelul NTS şi ariei postrema s-au pus în evidenţă receptori specifici pentru Ang II, cu siguranţă axonii neuronilor angiotensinergici din NPV şi SON modulează activitatea neuronilor NTS implicaţi în reacţiile baroreflexe. Într-adevăr, microinjectarea de Ang II în NTS este urmată de un răspuns presor semnificativ şi consistent proporţional cu doza de peptid administrată [355].

Cercetări ulterioare au pus în evidenţă că Ang II cerebrală reprezintă neurotransmiţătorul căilor angiotensinergice hipotalamo–NTS şi că neuroni din NTS pot conţine Ang II [356, 357]. Atenuarea controlului baroreflex al activităţii cardiace de către angiotensină la nivelul NTS incumbă şi participarea ariei postrema. Acest proces pare a fi un factor important în determinarea tonusului simpatic al formaţiunilor centrale [358].

În acest proces de "resetare" a baroreflexului arterial un rol deosebit de important îl are Ang II circulantă, care crescând descărcările simpatice centrale contribuie la instalarea hipertensiunii arteriale cu Ang II crescută.

Existenţa receptorilor specifici pentru Ang II în diferite arii diencefalice şi a trunchiului cerebral cu importanţă deosebită în reglarea activităţii simpatice periferice a pus problema interrelaţiilor dintre aceste zone în controlul presiunii arteriale.

Angiotensina circulantă ar putea influenţa activitatea structurilor simpatice pe mai multe căi. Astfel, din interacţiunea Ang II cu OSF se activează căile angiotensinergice către nucleul paraventricular, iar de aici informaţiile ajung la neuronii simpatici din bulbul rahiadian (partea rostrală a ariei bulbare ventrolaterale) şi coloana intermedio–laterală din măduva spinării. De la nivelul ariei postrema mesajele care reflectă interacţiunea acestei structuri cu Ang II sunt transmise nucleului tractusului solitar (NTS) şi nucleului parabrahial lateral care la rândul lor trimit impulsuri către neuronii preganglionari simpatici din măduva spinării.

Angiotensina II cu origine în sistemul nervos central poate să influenţeze structurile simpatice central de asemenea în două moduri. Astfel, Ang II cu origine în nucleul paraventricular inhibă eliberarea mediatorului chimic la nivelul primei sinapse a arcului baroreflex cu localizare NTS pe calea receptorilor presinaptici de tip AT_1.

Al doilea mecanism implică tot Ang II cu origine în nucleul paraventricular care fiind eliberată în NTS, partea rostrală a ariei bulbare ventrolaterale şi coloana intermedio-laterală medulară determină activarea neuronilor simpatici preganglionari. Ori, este cunoscut faptul că porţiunea rostrală a ariei bulbare ventrolaterale are o importanţă deosebită în controlul activităţii cardiovasculare inclusiv în reglarea baroreflexă a activităţii simpatice periferice [359].

Scanned with OKEN Scanner

Neuronii din porţiunea rostrală şi caudală a ariei ventrolaterale bulbare conţin o bogăţie de receptori de tip AT_1 şi sunt asociaţi cu posibilităţile de reglare a tonusului vasomotor şi a secreţiei de vasopresină hipotalamică [360].

Hiperactivarea sistemului renină – angiotensină cerebral reprezintă una dintre posibilităţile ce poate contribui la dezvoltarea hipertensiunii arteriale. În acest mod apar şobolanii cu hipertensiune spontană la care zona hipotalamică anterioară este hipersensibilă la Ang II exogenă şi care în acelaşi timp eliberează o mare cantitate de peptide angiotensinergice la şobolanii respectivi [361].

2.3.2.6.4. Efectele angiotensinei asupra hemodinamicii realizate prin mecanism nervos periferic

Faptul că angiotensina determină o parte din efectele sale cardio-circulatorii în mod indirect, prin intermediul sistemului nervos vegetativ periferic, a fost intuit de Braun–Menendez şi colab. care au demonstrat efectul catecolamin–eliberator al peptidului la nivelul medulosuprarenalei [275]. Totuşi, aprofundarea acestor aspecte nu a început decât mult mai târziu. Întrucât o parte din aceste date au fost deja discutate în alte capitole, cele de faţă nu reprezintă decât o sumară asamblare a unor fapte şi ipoteze. Orice încercare de a trage concluzii definitive în acest domeniu este precoce şi prin aceasta, sortită eşecului.

Aşa cum s-a subliniat într-un capitol anterior, angiotensina este capabilă să stimuleze miocardul pe cale simpatică.

Efectul poate fi realizat fie prin stimulare ganglionară, fie prin stimularea terminaţiilor simpatice tisulare. Efectul inotrop şi cronotrop pozitiv al administrării i.v. de Ang II este abolit prin strivirea ganglionului cervical inferior şi nu este afectat de distrugerea ganglionului cervical superior. Perfuzia locală cu angiotensină a ganglionului cervical inferior reproduce efectul respectiv, iar administrarea de agenţi adrenoblocanţi îl aboleşte [41, 70]. Faptul că angiotensina potenţează efectul accelerator al stimulării simpatice şi nu modifică răspunsul miocardic la norepinefrină pledează în favoarea acţiunii catecolamin – eliberatoare locale a peptidului.

În ciuda dovezilor prezentate, eventualul rol fiziologic jucat de acest mecanism de acţiune rămâne sub semn de întrebare, având în vedere dozele mari de Ang II necesare pentru declanşarea stimulării.

La nivelul patului vascular, interacţiunile dintre angiotensină şi inervaţia vegetativă simpatică sunt mult mai evidente. Simpatectomia reduce acţiunea vasoconstrictoare a angiotensinei în trenul posterior de câine izolat şi perfuzat, iar stimularea electrică a trunchiului simpatic secţionat restabileşte efectul [56, 276]. Efectul vasoconstrictor al angio-

Scanned with OKEN Scanner

tensinei este deprimat în condițiile simpatectomiei chirurgicale sau farmacologice realizate la șobolan, câine și om [264, 277, 278]. Acest efect se produce datorită acțiunii catecolamin – eliberatoare a angiotensinei dovedită de Mc Cubbin și Page și/sau acțiunii de blocare a recaptării de noradrenalină [279].

Efectele de facilitare prin angiotensină a vasoconstricției simpatice au fost frecvent observate [280, 281, 282, 283]. Faptul că tahifilaxia la angiotensină poate fi îndepărtată prin perfuzie de noradrenalină pledează, de asemenea, în favoarea realizării efectului angiotensinic prin creșterea concentrației locale de catecolamine.

Faptele sumar prezentate mai sus, duc la concluzia că, în acțiunea presoare sistemică și locală a angiotensinei nu trebuie neglijată interesarea componentei nervoase periferice de natură simpatică. Această componentă este, de altfel, luată în considerație și în geneza bolii hipertensive. În acest sens pledează experimente de lungă durată în care infuzia cronică a unor doze inițial subpresoare de angiotensină determină în timp apariția unei creșteri susținute a presiunii arteriale caracterizată printr-o labilitate deosebită și hiperreactivitate simpatico-adrenergică. Creșterea sensibilității cardiovasculare la descărcările adrenosimpatice și angiotensină este legată și de nivelul retenției de apă și sodiu.

2.3.2.7. EFECTE MORFOLOGICE ALE ANGIOTENSINEI LA NIVELUL ARTERELOR

Administrarea de angiotensină determină pe lângă efectele contractile deja descrise și efecte morfologice a căror apariție ar putea justifica implicarea peptidului în generarea de leziuni vasculare așa cum se întâmplă și în boala hipertensivă.

2.3.2.7.1. Aorta și arterele mari

Injectând angiotensină II în artera iliacă comună de șobolan și fixând preparatul după 20–30 de sec. prin perfuzie de glutaraldehidă, Constantinides și Robinson au observat desfacerea joncțiunilor dintre celulele endoteliale fără modificări electronoptice. În unele cazuri sunt expuse suprafețe mari de colagen subendotelial la contactul direct cu sângele [284]. Aplatizarea accentuată a epiteliului și prezența pseudopodelor endoteliale a determinat pe autori să interpreteze fenomenul ca urmare a contracției celulelor endoteliale produsă de angiotensină.

După injectare intracardiacă rapidă de Ang II în doze de 0,1 până la 10 ng simultan cu carbon coloidal, feritină sau peroxidază din hrean, urmate de fixare rapidă *in vivo* la șobolan, s-a observat că spațiile și joncțiunile intercelulare se lărgesc temporar, determinând apariția unor canale interendoteliale sinuoase.

Scanned with OKEN Scanner

Utilizându-se Ang II tritiată s-a constatat că peptidul se localizează selectiv în zona nucleară şi mitocondrială a celulelor musculare vasculare şi miocardice [285]. În acelaşi interval, izoleucina sau L-tirozina tritiate nu depăşesc endocardul sau endoteliul aortic.

2.3.2.7.2. Arteriole mezenterice şi intestinale

Tehnica ferestrei abdominale a permis urmărirea *in vivo* a reacţiiilor arteriolare la Ang II [287]. Injectarea a 1,7 µg /kg/min. determină un răspuns vascular imediat, însoţit de o creştere a presiunii arteriale. În porţiunea proximală a arteriolelor apare o dilataţie pronunţată separată uneori printr-o zonă de contracţie. În porţiunea distală, zonele dilatate şi contractate alternează. Unele vase sunt în stare de contracţie, iar altele sunt uşor dilatate pe întreaga lor lungime. Dacă se prelungeşte perfuzia, acest aspect dispare la unele animale şi persistă la altele. Repetarea după un interval de timp a perfuziei reproduce fenomenul caracteristic fiecărei zone.

Administrându-se doze de 10 µg la fiecare 2 – 5 min. timp de 2 – 4,5 ore înaintea sacrificării, s-a observat apariţia unor depozite de plasmă conjugată cu lissamin-rhodamină B_{200} în peretele arterelor mici şi arteriolelor pancreatice şi mezeneterice. Aceste depozite afectează fie întreaga circumferinţă a vasului, fie doar arii discrete. Depozitele fluorescente coincid cu zonele de acumulare a materialului PAS pozitiv ce ar putea fi determinate de o eventuală modificare degenerativă a muşchiului neted din tunica medie.

Întrucât intervalul de timp era destul de mare pentru a permite apariţia fenomenelor de necroză în tunica medie, experimentele nu au putut preciza dacă extruzia plasmei precede şi provoacă necroza mediei sau dacă degenerescenţa musculară precede necroza regională.

Combinând microscopia vitală cu infuzia de carbon coloidal, Giese a observat evoluţia în timp a modificărilor de permeabilitate vasculară [287]. Depozitele de carbon din pereţi se formează după aproximativ 50 de sec. de la apariţia zonelor de constricţie şi dilataţie. În acest mod, apariţia depozitelor PAS pozitive poate fi explicată prin creşterea permeabilităţii, fără modificări degenerative ale tunicii medii care nu ar avea timp să apară. Este de subliniat faptul că alterările de permeabilitate nu apar în zonele de constricţie, ele fiind caractersitice zonelor de dilataţie. Particulele de carbon se dispun în benzi longitudinale la nivelul mediei arteriolare şi se infiltrează în ariile intercelulare, putând fi găsite de ambele părţi ale membranei elastice interne.

Aceste observaţii au fost confirmate şi pe artere de 60 – 100 microni diametru [289]. Şi în acest caz, proteinele plasmatice pătrund în peretele vascular al segmentelor ce reacţionează la angiotensină prin dilataţie.

Scanned with OKEN Scanner

Prevenind cu hidralazină creşterea presională indusă de angiotensină ariile de constricţie dispar, persistând doar o parte a zonelor dilatate ca de altfel şi alterările de permeabilitate de la acest nivel.

Prin urmare hipertensiunea acută indusă prin angiotensină se însoţeşte de apariţia unor modificări locale ale calibrului şi permeabilităţii vasculare, fapt confirmat şi de cercetări ultramicroscopice [285, 290]. Modificările cele mai evidente apar în segmentele endoteliale dilatate fără separarea joncţiunilor. Fenomenele sunt mai accentuate când se infuzează simultan şi noradrenalină. În aceste circumstanţe pot să apară agregate plachetare şi ocazional chiar soluţii de continuitate endoteliale închise cu trombi trombocitari. Unele artere prezintă pereţi subţiaţi şi neregulaţi.

2.3.2.7.3. Vasele renale

Efectele morfologice ale injectării sistemice de angiotensină asupra circulaţiei renale de şobolan, au fost urmărite pentru prima dată de Byrom [291]. Rinichiul devine palid şi artera renală se dilată evident până la nivelul la care se desprind ramurile sale primare sau chiar puţin dincolo de acest sector. Iniţial, vasele distale se îngustează, iar după 5 min., când presiunea revine la normal, arterele hilare nu prezintă zone necrotice evidente. În unele cazuri ele rămân dilatate, cu pereţii subţiaţi şi contur neregulat. Izolat, apar pierderi ale coloraţiei tunicii medii sugerând ruperea fibrelor musculare. Durata scurtă de expunere exclude posibilitatea apariţiei acestor leziuni prin ischemie care ar necesita minimum 60 de min. pentru a cauza necroză arterială. În rinichiul opus, prelevat după 24 de ore, apar necroze ale arterelor hilare mari şi uneori, ale arterelor mici, distale. Necrozele se localizează în media arterelor şi ocupă întreaga circumferinţă sau doar sectoare izolate.

Administrarea subcutanată intermitentă de angiotensină (2 μg de 3 ori/zi) determină o discretă creştere a presiunii arteriale. După 24 de ore se pierde coloraţia nucleilor din fibrele musculare ale arterelor mijlocii şi în media lor apare material PAS pozitiv. După 7 zile degenerarea se accentuează, lama elastică internă se fragmentează şi apar vacuole, iar elementele celulare şi fibroase din intimă proliferează. În aceleaşi condiţii, aorta, vasele cerebrale, hepatice, splenice şi arterele coronare nu prezintă leziuni degenerative [292]. Infuzia de angiotensină timp de 10 ore/zi pe parcursul a 5 zile nu determină modificări degenerative în media vaselor renale, deşi presiunea arterială sistolică creşte moderat (150–180 mm Hg) în timpul infuziei. În schimb, arteriolele se îngroaşă difuz, lumenul se îngustează, iar celulele endoteliale lărgite proemină spre interior. Lama elastică internă este festonată şi apar zone de necroză fibrinoidă. Modificările apar în circulaţia renală, suprarenală, gastrointestinală şi pancreatică [293].

Scanned with OKEN Scanner

Perfuzia cu angiotensină timp de 1 oră, capabilă să mărească presiunea sistolică la 180 şi cea diastolică la 150 mm Hg, a determinat acelaşi tip de modificări în arterele arcuate mici şi interlobulare [294].

Leziunile generate de angiotensină sunt mult mai accentuate la şobolani cu hipertensiune renovasculară. În rinichiul solitar, cu artera renală clampată, necroza arterială apare în 90% din cazuri după 1 zi de administrare. Sunt interesate artere de diferite dimensiuni şi uneori apar anevrisme şi necroze capilare [291].

Necroza apare şi la animale hipertensive cu un rinichi intact şi celălalt clampat, leziunea localizându-se la cel din urmă organ. Îndepărtarea clemei chiar înaintea injectării de peptid face ca necroza din acest rinichi să devină masivă. Aproape fiecare arteriolă aferentă este lezată. S-ar putea ca arterele rinichiului intact, fiind expuse timp mai îndelungat la o presiune crescută, să devină rezistente la creşterile acute de presiune. În rinichiul clampat protecţia parţială realizată prin clemă face arterele mai susceptibile la lezarea acută hipertensivă [295]. Capilarele glomerulare prezintă anevrisme şi focare de necroză. Ariile de necroză conţin fibrină. Membrana bazală este intactă în această zonă, ceea ce confirmă originea lor anevrismală [291].

2.3.2.7.4. Grefe vasculare

Efectele morfologice ale angiotensinei au fost urmărite şi pe vase renale grefate *in vivo* ca allografe fetale pe urechea de iepure într-o cameră transparentă [296]. Injectarea de angiotensină (1 µg/kg) în vena urechii controlaterale determină creşterea acută a presiunii arteriale sistolice de la 85 la 120 mm Hg în 20 de sec. La 30 de sec. după injectare la nivelul arterelor interlobulare şi mai ales arteriolelor aferente, apar zone de constricţie separate prin zone de vasodilataţie relativă [290]. Efectul se accentuează timp de 3–4 min, până când toţi glomerulii îşi încetează fluxul datorită vasoconstricţiei. Stopul circulator durează 30 sec. În fine, după 5 min. circulaţia se reia şi vasele revin la diametrul iniţial. O a doua injectare în cursul următoarelor 2 ore determină fenomene similare, dar cu intensitate redusă la jumătate. Fixarea *in vivo* a permis observarea leziunilor din zonele de constricţie. Şi în acest caz sunt interesate doar celulele endoteliale ce prezintă vacuolizări marcate mai ales în zonele în care celulele îngustează lumenul datorită protruziei în lumenul vascular. Distanţa dintre celule şi stratul muscular apare crescută, iar microtubulii ce le unesc sunt perturbaţi. Joncţiunile endoteliale sunt păstrate, iar vacuolizările sunt îndepărtate de limitele intercelulare.

Scanned with OKEN Scanner

2.3.2.7.5. Aparatul juxtaglomerular şi arteriola aferentă

Administrarea de angiotensină timp de 14 zile (2 µg de 3 ori/zi) determină creşteri intermitente de 30 mm Hg ale presiunii arteriale pentru 1 – 2 ore [292]. În primele 7 zile de administrare numărul şi granularitatea celulelor epitelioide cresc treptat. Apoi, granularitatea revine la valorile iniţiale până în ziua a 14 – a. Celulele epitelioide rămân însă mărite de volum.

Administrarea de angiotensină (20 µg de 3 ori/zi) determină un răspuns presor similar, dar fără modificări ale aparatului juxtaglomerular. Administrarea de aldosteron simultan cu angiotensina împiedică creşterile de granularitate.

2.3.2.8. ROLUL SRA ÎN MENŢINEREA ECHILIBRULUI HIDROELECTROLITIC

Metabolismul hidroelectrolitic reprezintă parte concurentă la realizarea hemodinamicii în concordanţă cu necesităţile oricărui organism. Balanţa hidroelectrolitică, la rândul său, este menţinută constantă datorită interrelaţiilor conjuncte între numeroase mecanisme nervoase şi umorale care controlează atât aportul şi repartiţia apei şi electroliţilor în organism, cât şi eliminările acestora pe diverse căi.

În cadrul acestor mecanisme de control SRA îi revine un loc deosebit de important şi nu întâmplător renina este considerată „hormon al homeostaziei hidroelectrolitice", deoarece ea intervine în controlul tuturor etapelor metabolismului apei şi principalilor electroliţi din organism. Angiotensina iniţiază şi/sau modulează procese nervoase centrale şi periferice şi în acelaşi timp are intervenţii pe cale umorală asupra efectorilor care participă la schimburile de apă şi săruri minerale dintre organism şi mediul său de viaţă. Alături de efectele sale proprii la nivelul rinichiului SRA intervine în menţinerea homeostaziei hidroelectrolitice datorită interrelaţiilor pe care le contractă cu multiple formaţiuni din SNC, dar şi cu glandele corticosuprarenale, hipofiză, epifiză etc.

2.3. 2.8.1. Aportul de apă şi electroliţi

Echilibrul hidric presupune un aport de lichide perfect adaptat la necesităţile de apă ale organismului. Acestea variază în funcţie de vârstă, intensitatea proceselor metabolice, condiţiile de mediu (temperatură, saturaţie în vapori de apă) şi anumite situaţii fiziologice temporare (sarcină, lactaţie etc). Ingestia zilnică de apă variază între 2 şi 2,5 litri cu posibilităţi foarte largi de variaţie de la 0,5 la 24 litri.

Aportul de apă, atunci când apare necesitatea ingestiei, se traduce printr-un comportament specific de căutare şi ingestie cunoscut sub numele de „comportament dipsogen".

Scanned with OKEN Scanner

Comportamentul dipsogen este o manifestare complexă a organismelor care de multe ori se însoţeşte şi de dorinţa "apetit" de consum a unui anumit ion explicată prin dependenţa stabilităţii sectoarelor hidrice la o anumită homeostazie hidroelectrolitică.

Aportul de electroliţi este asigurat în cea mai mare parte prin alimentele ingerate, un regim alimentar echilibrat oferă organismului necesarul zilnic de săruri minerale.

2.3.2.8.1.1. Comportamentul dipsogen. Ingestia de apă pentru animalele terestre este adesea precedată de un comportament de căutare a acesteia care în funcţie de circumstanţe poate fi uneori deosebit de complex în funcţie de condiţiile de mediu. Acest comportament este justificat de motivaţia ingestiei şi constă uneori dintr-o serie de acţiuni mentale şi fizice de depăşire a unor obstacole în vederea atingerii scopului propus. Când motivaţia este foarte puternică (senzaţie intensă de sete) şi animalul nu şi-a găsit sursa de apă necesară el se străduieşte să-şi estompeze această senzaţie ingerând chiar lichide hipertone, lingând obiecte sau soluţii cu miros şi gust chiar dezagreabil. În circumstanţele în care senzaţia de sete este moderată animalul manifestă de multe ori un comportament selectiv, în sensul că ingeră numai lichide hipotone evitându-le pe cele cu calităţi neplăcute.

Senzaţia de sete reprezintă o manifestare subiectivă ca expresie a unei stări obiective ce reflectă perturbări în compartimentele hidroelectrolitice ale organismului. Necesitatea aportului de lichide este funcţie de deficitul de apă într-un anumit moment, fiind proporţională cu intensitatea deviaţiilor homeostatice pe care acest deficit le antrenează.

Deficitul de apă al unui organism poate fi rezultat al unui aport insuficient sau al unor pierderi pe diferite căi ale apei care nu au fost compensate de ingestia corespunzătoare. Întrucât nevoia obiectivă de a bea nu poate fi evaluată corespunzător s-a propus noţiunea de „sete" care ar reprezenta senzaţia care motivează ingestia de apă şi care corespunde în fond stării emoţionale provocată de nevoia de a bea [365]. Aceasta exprimă o necesitate generală a organismului care traduce deviaţiile homeostaziei hidroelectrolitice ce se manifestă la nivelul tuturor ţesuturilor şi organelor.

La om senzaţia de sete poate fi relativ cuantificată prin expresii verbale sau mimică. Totuşi nu există un raport constant între intensitatea senzaţiei subiective de sete şi cantitatea de lichide ingerate.

În aprecierea aportului de apă trebuie luată în consideraţie şi interpretarea propusă de Cannon ca o dorinţă de a bea „apetit pentru apă", stare care exprimă faptul că ingestia unui lichid se poate realiza şi în scopul asigurării unei stări de plăcere. Deci, apetitul pentru apă reprezintă un fenomen dobândit ce se bazează pe experienţele agreabile anterioare. Se

Scanned with OKEN Scanner

observă că spre deosebire de „apetitul pentru apă" setea reprezintă expresia unei necesități ce se manifestă ca o senzație dezagreabilă care duce la priza de apă în scopul compensării unei perturbări homeostatice.

Analizând conținutul noțiunilor „de sete" și „dorință de a ingera o anumită cantitate de lichide" s-a ajuns la concluzia că ingestia de lichide realizată în scopul corectării unei perturbări homeostatice trebuie interpretată ca o senzație de „sete obiectivă". În literatura de specialitate însă termenul de sete este folosit ca sinonim al ingestiei de apă.

2.3.2.8.1.2. Motivația ingestiei de apă în scop reglator. Pierderea de apă și electroliți dereglează homeostazia mediului intern și în mod particular osmolaritatea acestuia cu implicații atât în compartimentul intracelular, cât și extracelular.

În condițiile în care osmolaritatea mediului intern crește se produce o scădere atât a volumului intracelular, cât și a celui extracelular total (hipovolemie extracelulară) sau doar a celui intravascular (hipovolemie).

Aceste dereglări, evaluabile, antrenează ingestia de apă cunoscută în mod convențional sub numele de „ingestie reglatoare de apă" sau „sete primară" pentru a o putea diferenția de ingestia de apă declanșată de dereglări nemăsurabile etichetată „sete secundară". Și din această succintă prezentare reiese faptul că interpretările pot duce uneori la concluzii eronate și de aceea se preferă utilizarea termenilor de „ingestie reparatorie" și respectiv „ingestie nereparatorie" de apă. „Ingestia reparatorie" se referă la ingestia de lichide hipotone consecință a unei dereglări măsurabile a homeostaziei compartimentelor hidroelectrolitice ale organismului și „ingestie nereparatorie" de apă când procesul survine fără o astfel de justificare [366].

Setea reparatorie survine atunci când dereglările homeostaziei sunt consecință a imposibilității organismului de a avea acces imediat la apă întrucât orice organism care nu este privat de apă prin condiții exterioare bea întotdeauna înaintea apariției unei dereglări măsurabile a homeostaziei. Acest ultim tip de comportament este caracteristic diferitelor forme de sete nereparatorie ce menține organismul în stare de hidratare normală și care în foarte multe situații se însoțește de constituirea unor mici rezerve.

2.3.2.8.1.3. Ingestia reparatorie de apă. Senzația subiectivă de sete exprimă în acest caz un dezechilibru obiectiv și devine manifestă la o creștere de aproximativ 6 mOsmoli/l a osmolarității plasmatice (sete hiperosmolară).

În prima fază a privării de apă se instalează hipovolemie extracelulară care, deși nu se asociază imediat cu creșterea osmolarității, reprezintă o dereglare homeostatică care induce ingestie de lichide (sete hipovolemică).

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, reduceri izoosmotice ale volumului lichidian circulant (aproximativ de 500 ml) provoacă sete. Această situaţie (sete volumetrică sau extracelulară) se întâlneşte atunci când se produc scăderi bruşte ale apei extracelulare fără să fie urmată însă de o deshidratare celulară compensatorie.

Rolul hipovolemiei extracelulare în comportamentul dipsogen normal este nesemnificativ şi nu a fost iniţial recunoscut, probabil datorită faptului că hipovolemia extracelulară este urmată după o foarte scurtă perioadă de timp de o creştere a osmolarităţii lichidului extracelular care, la rândul său, induce o reacţie de deshidratare intracelulară.

Deoarece setea recunoaşte ca stimul declanşator atât creşterile osmolarităţii plasmatice, cât şi scăderile volumului lichidian circulant, poate fi considerată ca semnal subiectiv reglator al homeostaziei circulatorii.

Afirmaţia de apartenenţă a homeostaziei hidroelectrolitice la homeostazia circulatorie, mai precis la cea presională, este argumentată de faptul că buna funcţionare a sistemului circulator necesită adaptări permanente ale fluxului sanguin şi o anumită distribuţie a sângelui în diversele teritorii ale organismului. Acestea ar putea fi perturbate dacă ingestia de apă sau controlul, în special renal, al volumului extracelular ar fi afectate. Factorii care intervin în menţinerea unei balanţe hidrice normale (privind atât aportul cât şi eliminările de apă) au şi o acţiune dovedită asupra musculaturii netede vasculare.

Complexitatea fenomenelor se accentuează o dată cu evidenţierea unor interrelaţii dintre aceşti factori.

Exemplul ADH-ului şi angiotensinei deşi nu este suficient, este deosebit de ilustrativ.

Hormonul antidiuretic (vasopresina) are dublu efect, de conservare a apei şi de creştere a tonusului vascular. Ambele efecte, vascular şi volemic, au ca şi consecinţă comună menţinerea în anumite limite a valorii presiunii arteriale.

Aceeaşi dualitate de acţiune o regăsim şi în cazul angiotensinei, vasoconstrictor puternic care însă are la nivel central şi efect dipsogen, iar la nivelul rinichiului are acţiuni antinatriuretice şi antidiuretice.

Comportamentul dipsic şi senzaţia de sete au încă multe necunoscute. Declanşată după ce se atinge un anumit dezechilibru, senzaţia de sete dispare în mod paradoxal după ingestia unei anumite cantităţi de lichide deşi nu s-a scurs practic timpul necesar pentru corectarea deficitului, iar priza de apă nu corectează în totalitate deficitul.

Cantitatea de apă ingerată este inferioară valoric celei care ar putea să corecteze complet deficitul cauzal. Declanşarea şi oprirea senzaţiei de sete apare ca un compromis între necesităţile de moment şi cantitatea de lichide ingerate.

Scanned with OKEN Scanner

Există cu certitudine o cointeresare în egală măsură şi a componentei electrolitice, în special a sodiului. În numeroasele variante de dezechilibre hidrice există o interdependenţă între valorile apei şi sodiului în compartimentele hidrice. Datorită particularităţilor de permeabilitate a membranelor, ajustările reglatoare care se produc ca urmare a modificărilor de osmolaritate sunt realizate în special prin transferuri hidrice transmembranare mai mult decât prin transferuri electrolitice.

Organismul este înzestrat cu mecanisme care antrenează şi apetit specific pentru apă sărată. Incapacitatea de procurare a acesteia impune un consum de apă obişnuită (hipotonă), dar în cantitate insuficientă.

Apetitul specific pentru soluţiile saline se caracterizează prin faptul că dispare odată cu recuperarea deficitului cauzal. La aceste concluzii s-a ajuns în special în urma observaţiilor efectuate pe oameni care sunt capabili să-şi exprime verbal şi, mai exact ingestia de preferinţă pentru soluţiile sărate, în funcţie de modificările concentraţiei sodice şi volhidriei mediului lor intern. Astfel, atracţia sau preferinţa gustativă poate servi ca ghid pentru detectarea şi corectarea anumitor perturbări electrolitice.

2.3.2.8.1.4. Reglarea comportamentului dipsogen. Homeostazia hidroelectrolitică este o stare de echilibru care presupune o concordanţă perfectă între intrările şi ieşirile de apă şi electroliţi la nivelul organismului.

Acest echilibru se poate menţine printr-o monitorizare permanentă a conţinutului în apă şi electroliţi din sectoarele hidroionice cu ajutorul unor mecanisme de feed – back, nervoase şi umorale.

Mecanismele reglatoare includ:

- detectori (senzori) specifici capabili să sesizeze modificările de volum şi compoziţie ionică;
- structuri care primesc aceste informaţii şi au posibilitatea de-a declanşa ulterior procese în urma cărora sunt corectate chiar şi cele mai mici abateri;
- mecanisme efectoare care intervin atât în aportul, cât şi în eliminările de apă şi electroliţi.

2.3.2.8.1.4.1. *Receptori implicaţi în declanşarea setei.* Sistemul de senzori capabili să perceapă modificările care pot apărea în sectoarele hidroionice include receptori interni şi externi [367].

Receptorii interni pot fi clasificaţi în:

– receptori ai spaţiului intracelular

– receptori ai spaţiului extracelular

Aceştia sunt reprezentaţi de celule care pot să detecteze variaţiile unei anumite constante (de exemplu, volumul hidric intracelular) sau variaţia unui parametru biologic care este dependent de această constantă (de

Scanned with OKEN Scanner

exemplu, potenţialul de membrană al celulelor al căror volum hidric variază). Excitabilitatea celulei nervoase depinde de repartiţia Na^+ de o parte şi de alta a membranei, acelaşi lucru fiind valabil şi pentru celulele receptoare. În aceste condiţii se poate explica de ce stimulul cel mai eficace pentru declanşarea setei este Na^+ [368].

Stabilirea existenţei acestor receptori a pus inevitabil şi problema localizării lor.

Sediul sugerat iniţial era hipotalamic însă metodele electrofiziologice au pus în evidenţă o localizare mai largă a ariei receptoare. Aceasta cuprinde aria preoptică laterală, zona subchiasmatică, pereţii laterali ai ventriculului III cerebral (V3) şi arii învecinate.

Se pare că există osmoreceptori şi în parenchimul renal şi de-a lungul sistemului port, aceştia din urmă venind în contact cu apa absorbită pe cale digestivă. Aceşti receptori detectează prezenţa apei şi a diferiţilor electroliţi chiar în momentul ajungerii lor din lumenul intestinal în mediul intern.

Impulsurile plecate de la aceşti receptori ajung precoce la centrii hipotalamici înaintea apariţiei modificărilor de volum şi tonicitate la nivelul circulaţiei sistemice.

Receptorii pentru variaţiile spaţiului extracelular sunt localizaţi atât la nivelul vaselor sanguine (venele mari), cât şi la nivelul inimii (atrii).

Influenţarea directă a centrilor setei prin impulsuri de la aceşti receptori rămâne o problemă controversată. Este certă însă implicarea lor prin ADH şi angiotensină.

2.3.2.8.1.4.2. ***Receptorii externi.*** Receptorii externi sunt structurile capabile să perceapă şi să evalueze cantitativ aportul hidric şi/sau de substanţe minerale.

Semnalele care sunt capabile să declanşeze setea pot veni din zone diferite ale organismului (cavitatea bucală, esofag, stomac, zona hepatobiliară etc.). Senzaţia de sete care să inducă un comportament dipsogen eficient se produce însă numai dacă informaţiile de la receptori ajung la structuri nervoase specifice. Astfel, stimularea unor structuri denervate pot induce un comportament dipsogen însă ineficient şi neconcordant cu valoarea stimulului.

Ingestia de apă poate fi oprită printr-o senzaţie de "saţietate" înainte ca priza de apă să satisfacă scopul corector. Este vorba de o inhibiţie preabsorbtivă a setei, explicată şi prin creşterea ratei impulsurilor nervoase în aferenţe provenite de la nivelul tractului digestiv.

Cheia comportamentului dipsogen corelează mecanismul reflex necondiţionat cu unul dobândit, prin care se instalează o relaţie destul de rapidă între senzaţiile care generează setea şi efectele preabsorbtive care urmează.

Scanned with OKEN Scanner

2.3.2.8.1.4.3. *Centrii setei.* Existenţa unor structuri nervoase cu capacitatea de a primi şi percepe modificările semnalate de detectorii pentru volum şi compoziţie electrolitică, dar în acelaşi timp şi de a declanşa răspunsuri corectoare, a fost iniţial intuită şi ulterior demonstrată printr-un lung şir de experimente.

Comportamentul ingestiv pentru lichide este coordonat de zone din sistemul nervos stimulate preferenţial de modificările de volum lichidian şi de osmolaritate. Osmoreceptorii pentru „setea intracelulară" – produsă în circumstanţe care generează deshidratare intracelulară se găsesc în area preoptică (LPO) laterală, peretele antero – ventral al ventriculului III cerebral (AV3V), nucleii paraventricular (NPV) şi supraoptic (NSO). Afirmaţia este susţinută prin date experimentale. Injectarea de soluţii saline hipertone în LPO şi AV3V produce un efect dipsogen, iar crearea hiperosmolarităţii prin administrare sistemică de soluţii saline hipertone se însoţeşte de modificări ale activităţii electrice în neuronii din ariile respective. În acelaşi sens, lezarea acestor zone aboleşte efectul dipsogen care apare ca răspuns la administrarea soluţiilor saline hipertone. NPV şi NSO conţin osmoreceptori sau primesc informaţii de la LPO sau / şi AV3V. Neuronii din aceşti nuclei produc vasopresină care este ulterior eliberată prin hipofiza posterioară în torentul circulator contribuind la conservarea apei prin acţiunile sale în special renale.

Controlul nervos pentru setea extracelulară este realizat în special de OSF şi AV3V. OSF este un organ circumventricular la nivelul căruia bariera hemato – encefalică este mai permeabilă. Neuronii din aceşti nuclei sunt sensibili la acţiunea angiotensinei care joacă la acest nivel rol de neurotransmiţător . Concentraţii chiar scăzute de angiotensină introduse la acest nivel produc efect dipsogen, angiotensina modificând activitatea electrică a acestor neuroni.

Distrugerea acestei zone duce la dispariţia efectului dipsogen indus de angiotensină şi reduce ingestia normală de apă.

Principala proiecţie a OSF este spre AV3V, care este o zonă plasată înăuntrul barierei hemato – encefalice.

Structurile „nervoase" principale implicate în comportamentul dipsogen şi recunoscute ca „centru al setei" se găsesc în hipotalamusul lateral. Este demonstrat faptul că unităţi din hipotalamusul lateral şi NSO cunoscute ca având proprietăţi de osmoreceptori sunt şi sediul proiecţiilor din zone periferice. Structurile respective răspund atât la injectarea intracarotidiană de soluţie salină hipertonă, cât şi la aplicarea acestei soluţii pe limbă. Aceleaşi unităţi răspund de o manieră inversă în condiţiile în care soluţia hipertonă este înlocuită cu apă distilată atât în injectările intracarotidiene, cât şi la aplicarea periferică (limbă).

Scanned with OKEN Scanner

Acestor unităţi li se descrie şi un răspuns cu caracter anticipator. La maimuţa în stare de veghe, activitatea lor bazală variază la vederea apei la fel ca şi în cursul actelor implicate în ingestia de apă.

Această zonă din hipotalamus se pare că guvernează numeroase tipuri de răspuns în cadrul comportamentului dipsic sau a altor tipuri de comportament normoingestiv, iar „specializarea" în interiorul acestei structuri nervoase este foarte probabil rezultatul diferenţierii mediatorilor chimici specifici fiecărei forme de activitate.

2.3.2.8.2. SRA şi homeostazia hidroelectrolitică

Menţinerea în limite cvasiconstante a conţinutului în apă şi electroliţi a sectoarelor hidroionice ale organismului se rezumă de fapt la un echilibru între intrările şi ieşirile acestora din organism.

Este evident faptul că există în permanenţă circumstanţe care tind să modifice acest echilibru (de exemplu: ingestie redusă de lichide, transpiraţii mai abundente în condiţii de efort sau solicitate de mecanismele termoreglatorii etc.).

Dacă aceste mici tendinţe inevitabile într-o viaţă cotidiană normală, nu depăşesc anumite valori, dezechilibrul se rezolvă pe plan local, în sensul că mişcările apei între compartimentul intra şi extracelular pot restabili volumul şi osmolaritatea din sectorul afectat, dovedind că organismul normal (în stare de funcţionare echilibrată) are o mare disponibilitate de adaptare funcţională şi de autocontrol.

Acest mecanism corector simplu devine însă insuficient dacă dezechilibrul este major. În acest caz, sunt antrenate în activitate structuri nervoase sau/şi glandulare, care primind informaţii de la receptori specializaţi (baroreceptori, osmoreceptori, voloreceptori) declanşează reflex sau pe cale umorală mecanisme mai complexe capabile să corecteze parametrii modificaţi (volum lichidian, osmolaritate).

De regulă, aceste mecanisme presupun participarea unor factori care intervin atât asupra ingestiei, cât şi asupra eliminărilor hidroelectrolitice şi în acelaşi timp permit exprimarea interrelaţiilor dintre sistemele biologic active care acţionează în acelaşi sens.

Sistemul renină – angiotensină – aldosteron (SRAA) contribuie la menţinerea echilibrului hidro-electrolitic, dar şi presional atât prin capacitatea sa de a influenţa aportul lichidian, eliminările hidroelectrolitice, cât şi prin capacitatea lor de a modifica reactivitatea peretelui vascular.

Implicaţiile SRA în homeostazia presională au fost sesizate înaintea celor legate de intervenţia sistemului în echilibrul hidroionic [369].

Ofertele experimentale au completat şi/sau dezvăluit noi aspecte privind atât caracteristicile componentelor SRA, cât mai ales posibilităţile multiple de interacţiune cu alte sisteme biologic active.

Scanned with OKEN Scanner

S-a constatat că hipovolemia provoacă senzaţia de sete, dar în acelaşi timp şi stimularea apetitului pentru sodiu.

Prin numeroase proceduri experimentale care realizează deficit de sodiu în organism (sângerare, injectare subcutanată sau intraperitoneală de soluţii hiperoncotice, obstrucţia venei cave inferioare etc.) s-a demonstrat că atât ingestia de apă, cât şi cea de sodiu implică participarea sistemului renină-angiotensină.

Implicaţiile clinice ale acestor constatări le regăsim şi în unele manifestări patologice: diareea profuză, vărsături incoercibile, unele afecţiuni renale, insuficienţă cardiacă, şoc circulator etc.

Participarea SRA în setea hipovolemică este majoră şi cu siguranţă că are tangenţă şi cu stimularea apetitului pentru sodiu care se întâlneşte în astfel de situaţii.

Implicaţia SRA în aportul de lichide a fost sugerată cu aproape jumătate de secol în urmă de către Linazasoro [370], care semnala că în reglarea balanţei hidrice intervine un "factor de sete" eliberat de către rinichi. S-a constatat ulterior că şobolanii binefrectomizaţi ingeră, în condiţiile accesului liber la apă, mai puţine lichide comparativ cu şobolanii indemni. Efectele nefrectomiei sunt contracarate prin administrarea de extracte renale, diferenţele de comportament dipsogen dintre cele două loturi de animale fiind astfel înlăturate.

S-a constatat ulterior că renina poate fi implicată într-un proces de efuzie seroasă urmată de creşterea ingestiei de apă atât la câine, cât şi la şobolan [371, 372, 373]. Ca urmare, ingestia de lichide nu era considerată ca o consecinţă a stimulării primare a centrului setei, ci că ar fi rezultatul hipovolemiei consecutive creşterii transudatului capilar, prin acţiunea reninei sau, al altui eventual factor care creşte permeabilitatea capilară.

Supoziţiile asupra intervenţiei fiziologice a SRA în comportamentul dipsogen au lansat noi piste de cercetare.

Concluziile numeroaselor studii sunt unanime în aprecierea că efectele dipsogene ale extractelor renale nu pot fi separate de renină şi că sunt mediate prin Ang II. Astfel, acţiunii vasoconstrictoare, iniţial descrise, Ang II i s-au adăugat şi efecte dipsogene prin acţiune directă la nivelul SNC [366, 374, 375, 376, 377, 378, 379].

Administrarea Ang II atât în circulaţia sistemică, cât şi în diferite arii cerebrale, au permis să se stabilească mai precis zonele în care Ang poate influenţa comportamentul dipsogen dar şi cota de participare a Ang II circulante sau a Ang II cerebrale la acest comportament.

Astfel, Ang II sintetică injectată i.v., în doză unică la câine cu balanţa hidrică normală induce ingestia de apă după o perioadă de latenţă care variază între 20 de secunde şi 2 minute.

Scanned with OKEN Scanner

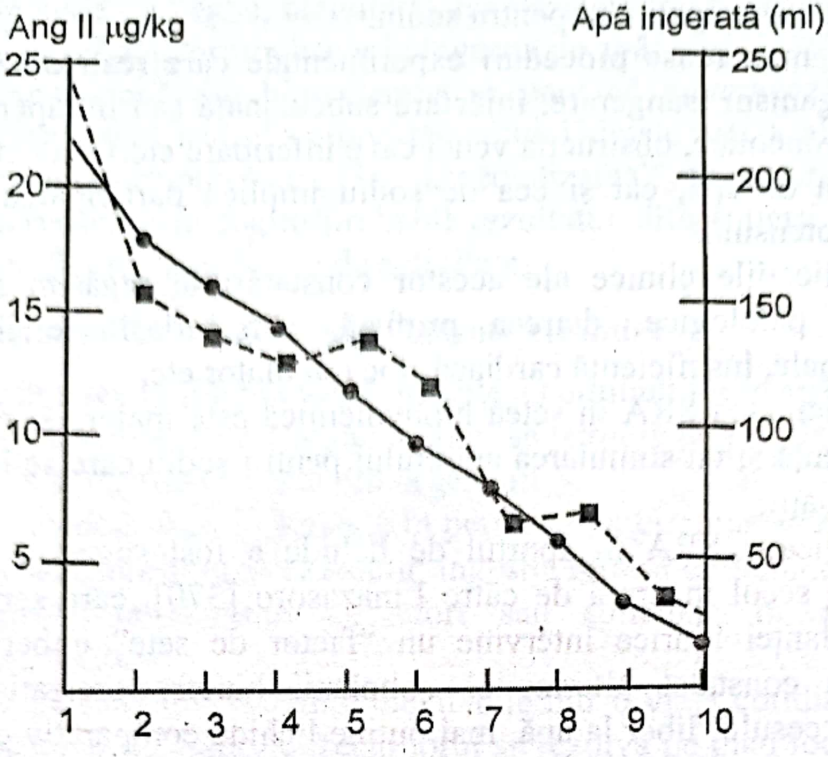


Figura 2.11. Relaţia dintre doza de Ang II injectată i.v. şi cantitatea de apă ingerată la câine în stare de echilibru hidroelectrolitic.

Ingestia de apă se realizează în mai multe reprize, fără ca intervalul de manifestare să depăşească 20–30 de minute. Reinjectarea Ang II după un interval care depăşeşte 15–30 de minute de la prima administrare reproduce fenomenul descris anterior [383].

Deşi cantitatea de apă ingerată a variat în limite foarte largi de la un animal la altul există o proporţionalitate directă între doza de Ang II injectată şi cantitatea de apă consumată (figura 2.11.).

Ang II sintetică stimulează ingestia de apă şi în condiţiile în care este injectată în ventriculii cerebrali laterali sau în diferite zone diencefalice. Pragul de declanşare a efectului dipsogen, în condiţiile administrării i.c.v. este mult mai scăzut (0,009 µg Ang II/kg corp) decât în condiţiile injectării i.v. (0,123 µg Ang II/kg corp), iar cantitatea totală de apă ingerată în timpul unui astfel de experiment a ajuns până la 350 ml. Administrarea Ang II sintetice prin intermediul canulelor plasate în diferite zone diencefalice, a scos în evidenţă sensibilitatea intermediară (0,048 µg/kg corp) a acestor structuri faţă de calea intraventriculară şi sistemică (figura 2.12.).

Ingestia de apă, indusă de administrarea Ang II atât în circulaţia sistemică, cât şi pe cale i.c.v., a fost însoţită, de cele mai multe ori, de manifestări de tip vegetativ: vomă, micţiune, defecaţie, erecţie, polipnee etc.

Scanned with OKEN Scanner

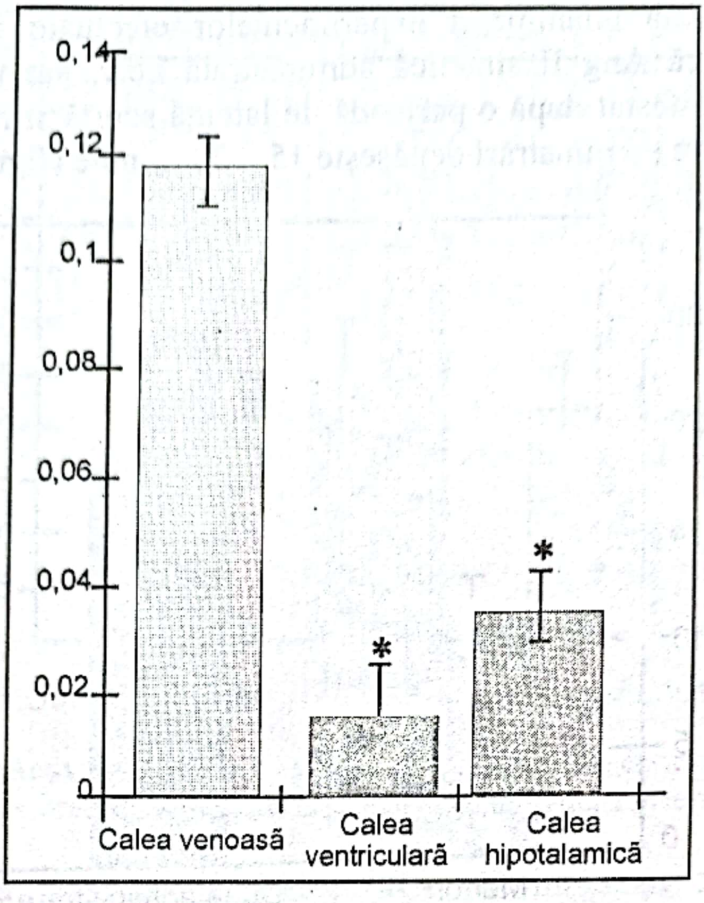


Figura 2.12. Pragul de declanşare a efectului dipsogen în funcţie de calea de administrare a Ang II sintetică la câine (* - $p < 0,01$).

Comportamentul dipsogen la şobolan după administrarea în ventriculii cerebrali (ventriculii cerebrali III şi laterali) este întrucâtva diferită faţă de al câinelui. Ingestia de apă este declanşată după o perioadă de latenţă foarte scurtă (5 – 40 de secunde), pragul de producere a variat între 0,8 – 1,4 ng/kg corp, procesul s-a realizat în reprize repetate, dar a interesat preferenţial soluţia de NaCl 9 ‰ şi mai ales în intervalul de timp imediat după administrarea peptidului. În această perioadă (aproximativ 30 de minute) de stimulare a setei de către Ang II şobolanii au ingerat lichide în mod alternativ, pendulând între recipientul cu apă de robinet şi cel cu soluţia salină.

Reinjectarea i.c.v. a Ang II după o perioadă de 30 de minute de la administrarea precedentă reproduce comportamentul dipsogen al administrărilor anterioare. Cantitatea de lichide ingerată în situaţia repetării experimentului şi măsurată pe un interval identic de timp a fost în majoritatea cazurilor mai scăzută. Se poate afirma că procesul este aditiv, deoarece în cazul administrărilor repetate de Ang II sintetică, cantitatea de lichide ingerate atât în prima oră, cât şi în următoarele 4 ore de la administrare a fost mai mare decât în cazul administrărilor unice.

Scanned with OKEN Scanner

Concluzia unanimă a experimentelor efectuate la diferite specii animale este că Ang II sintetică administrată i.c.v. are un puternic efect dipsogen, manifestat după o perioadă de latenţă scurtă şi reproductibil dacă intervalul dintre administrări depăşeşte 15 – 30 minute (figura 2.13.).

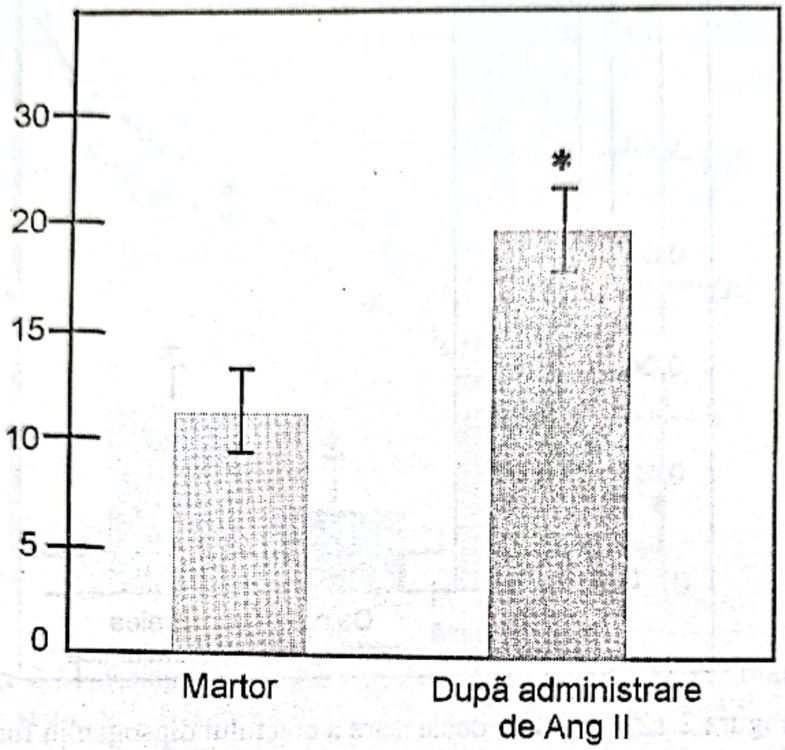


Figura 2.13. Media volumului de lichide ingerate în 24 de ore înainte şi după administrarea i.c.v. de Ang II la şobolan (* - $p < 0,01$).

Comportamentul dipsic indus de administrarea Ang II sintetică, sensibilitatea evident mărită a structurilor cerebrale faţă de acest peptid la care s-a adăugat şi acumularea unui număr impresionant de date care atestă existenţa tuturor elementelor componente ale SRA în creier, au condus la ideea că declanşarea şi/sau modularea ingestiei de apă ar putea fi realizată de către Ang II formată local, în diferite structuri cerebrale. Un argument puternic îl constituie observaţia că injectarea i.c.v. de renină, angiotensinogen şi angiotensină II se însoţeşte de o crescută ingestie de apă doar dacă formarea sau acţiunea Ang II la locul de administrare nu sunt influenţate prin administrarea anterioară de blocanţi ai SRA [382].

Evidenţierea unei activităţi renin – like în unele structuri cerebrale (cortex cerebral, trunchi cerebral, hipotalamus) la cel puţin 24 de ore după binefrectomie şi creşterea semnificativă a conţinutului în renină în structurile mai sus amintite vin, de asemenea, în sprijinul supoziţiei că angiotensinele cerebrale pot fi implicate în controlul aportului de lichide în organism (figura 2.14.).

Scanned with OKEN Scanner

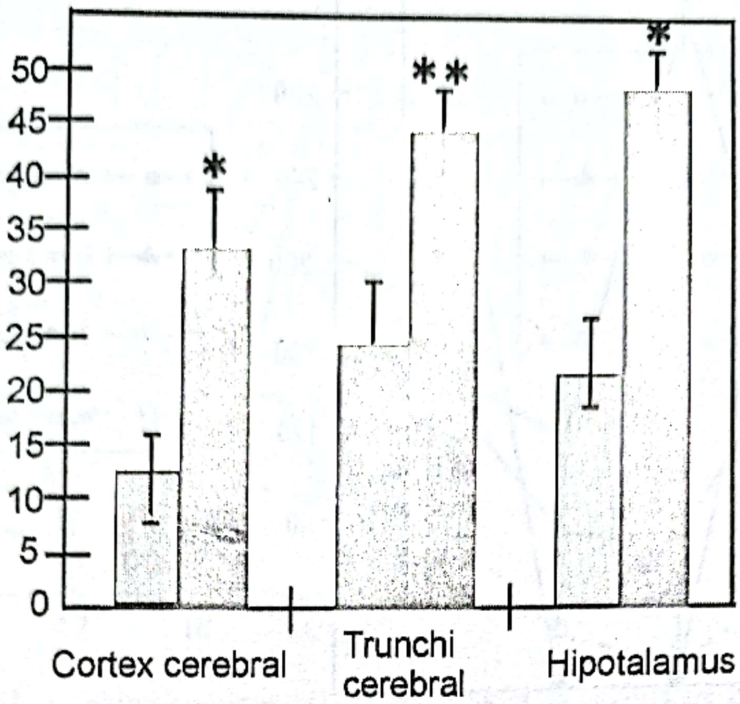


Figura 2.14. Activitatea renin – like (ng Ang II/g ţesut/h) în cortexul parietal, trunchiul cerebral şi hipotalamus la şobolan înainte şi după binefrectomie.

Faptul că toate componentele SRA pot influenţa comportamentul dipsogen, iar concentraţia lor în plasmă şi în diferite structuri nervoase sau glandulare suportă fluctuaţii atât în timpul evoluţiei ontogenetice, cât şi în funcţie de fazele nictemerului [381] a constituit o motivaţie puternică pentru urmărirea în paralel a ritmului nictemeral al ingestiei de lichide şi a conţinutului de renină şi enzimă de conversie din diferite structuri cerebrale.

Urmărind evoluţia procesului dipsogen s-a constatat că ingestia de lichide la şobolanul adult are loc cu precădere în perioada de întuneric a nictemerului şi priveşte de preferinţă soluţia de NaCl 9 ‰.

Variaţiile nictemerale ale ingestiei de lichide pot fi corelate în special cu cele ale conţinutului în izorenină şi enzimă de conversie din epifiză şi hipofiză şi cu cele ale izoreninei hipotalamice.

Ritmul nictemeral al ingestiei de lichide al şobolanului adult se suprapune ritmului activitate repaus.

Corelaţiile cele mai evidente privind activitatea SRA epifizară şi ingestia de lichide s-au observat în perioadele 6–12 a.m. şi 24–6 a.m. În intervalul de timp 6–12 a.m. şobolanii ingeră cea mai scăzută cantitate de lichide, dar şi conţinutul în renină este cel mai scăzut, iar enzima de conversie se găseşte în cantitatea cea mai mare. Dimpotrivă, în perioada de activitate intensă (0–6 a.m.) animalele ingeră cea mai mare cantitate de lichide din cursul nictemerului, iar conţinutul pineal de renină este cel mai ridicat în timp ce enzima de conversie prezintă cele mai scăzute valori (figura 2.15.).

Scanned with OKEN Scanner

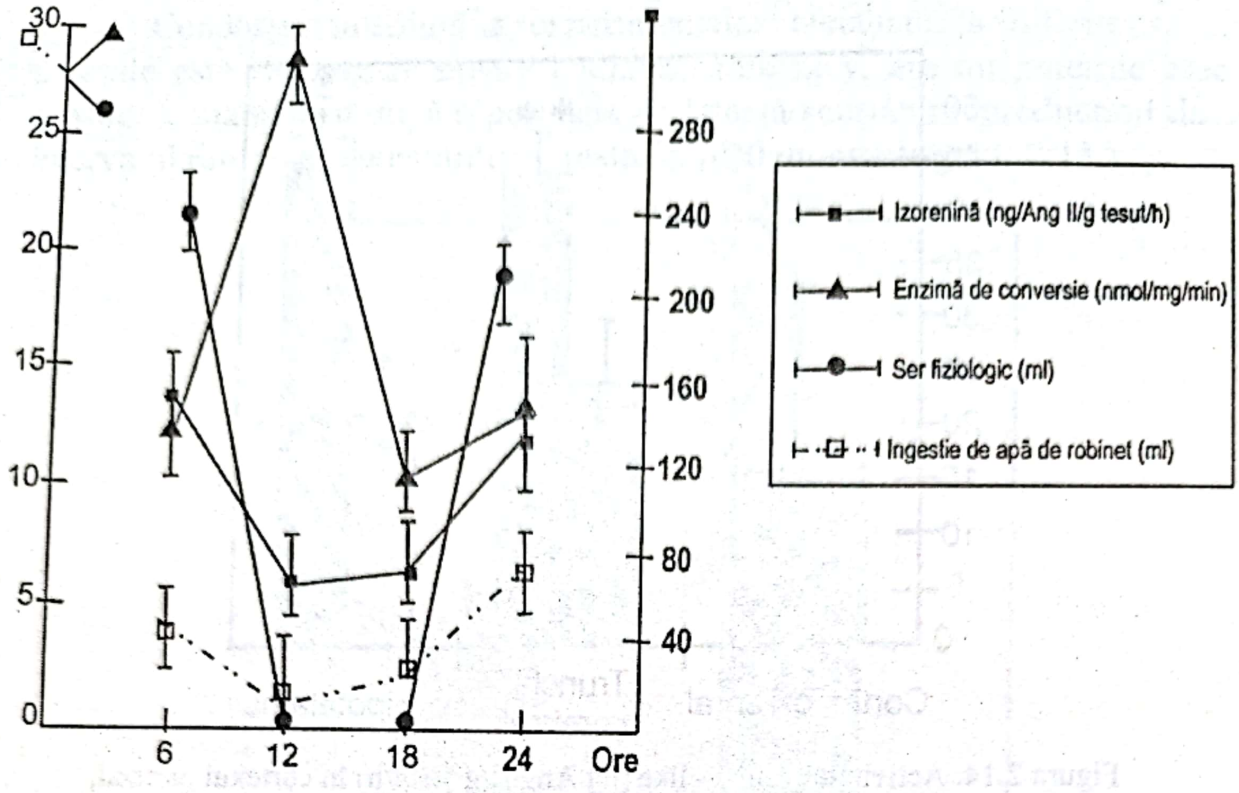


Figura 2.15. Variaţiile conţinutului în izorenină şi enzimă de conversie din glanda epifiză şi a volumului de lichide ingerate în cele patru perioade ale nictemerului la şobolanul adult.

Glanda hipofiză prezintă un tablou diferit faţă de pineală, în ceea ce priveşte conţinutul în renină şi enzimă de conversie în perioadele de lumină şi întuneric la şobolan. În timpul perioadei de întuneric (18 p.m. – 6 a.m.) conţinutul în izorenină scade în prima parte (18 p.m. – 24 p.m.) pentru ca în a doua parte el să aibă tendinţa de revenire spre valorile întâlnite în perioada de lumină. Enzima de conversie în schimb se găseşte în cantitate foarte crescută în toată perioada de întuneric, iar cele mai scăzute valori în a doua parte a perioadei de lumină a nictemerului (figura 2.16.).

La nivelul hipotalamusului variaţiile conţinutului în izorenină nu se însoţesc de modificări cu semnificaţie ale enzimei de conversie. Se remarcă o scădere brutală a izoreninei în prima parte a perioadei de întuneric şi o creştere în prima parte a perioadei de lumină (figura 2.17.).

Prezenţa tuturor elementelor sistemului renină-angiotensină şi variaţiile nictemerale ale acestora în structurile cerebrale investigate au deschis calea unor noi cercetări privind implicaţiile acestui sistem în reglarea tonusului centrilor vasomotori, a ingestiei de lichide şi săruri minerale, a secreţiei de ADH etc.

Scanned with OKEN Scanner

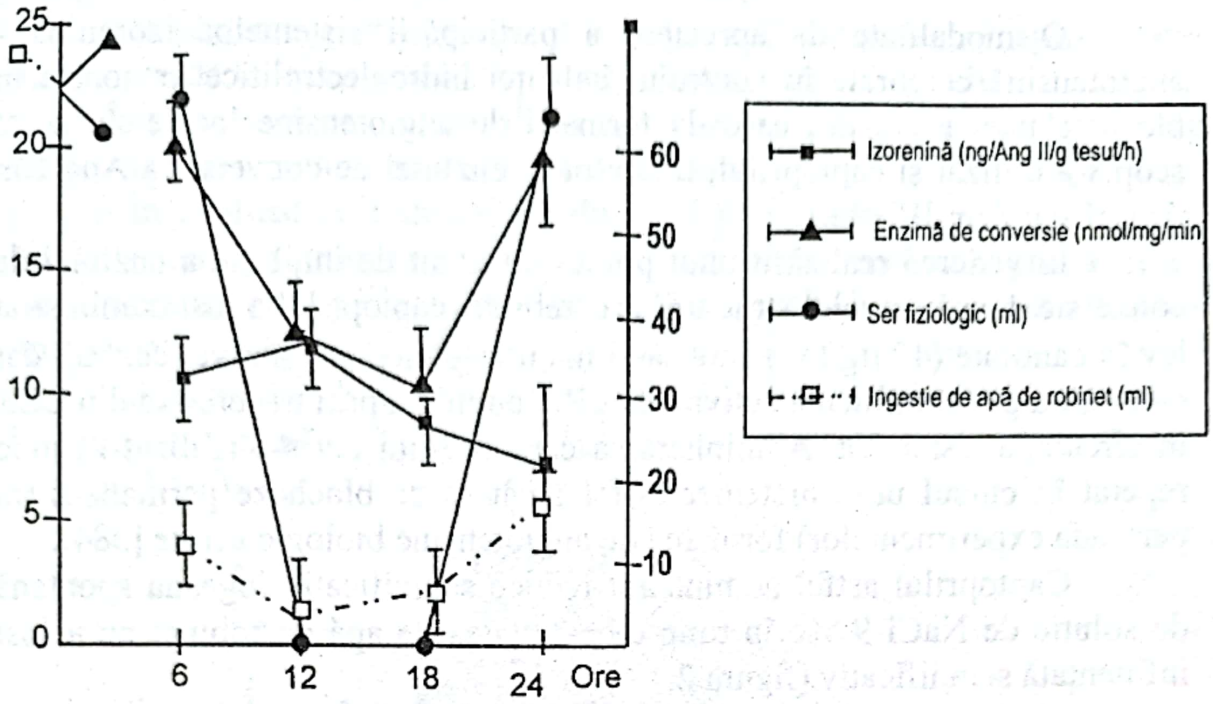


Figura 2.16. Evoluţia conţinutului în izorenină şi în enzimă de conversie la nivelul glandei hipofize comparativ cu a volumului de lichide ingerate pe parcursul a 24 de ore la şobolanul adult.

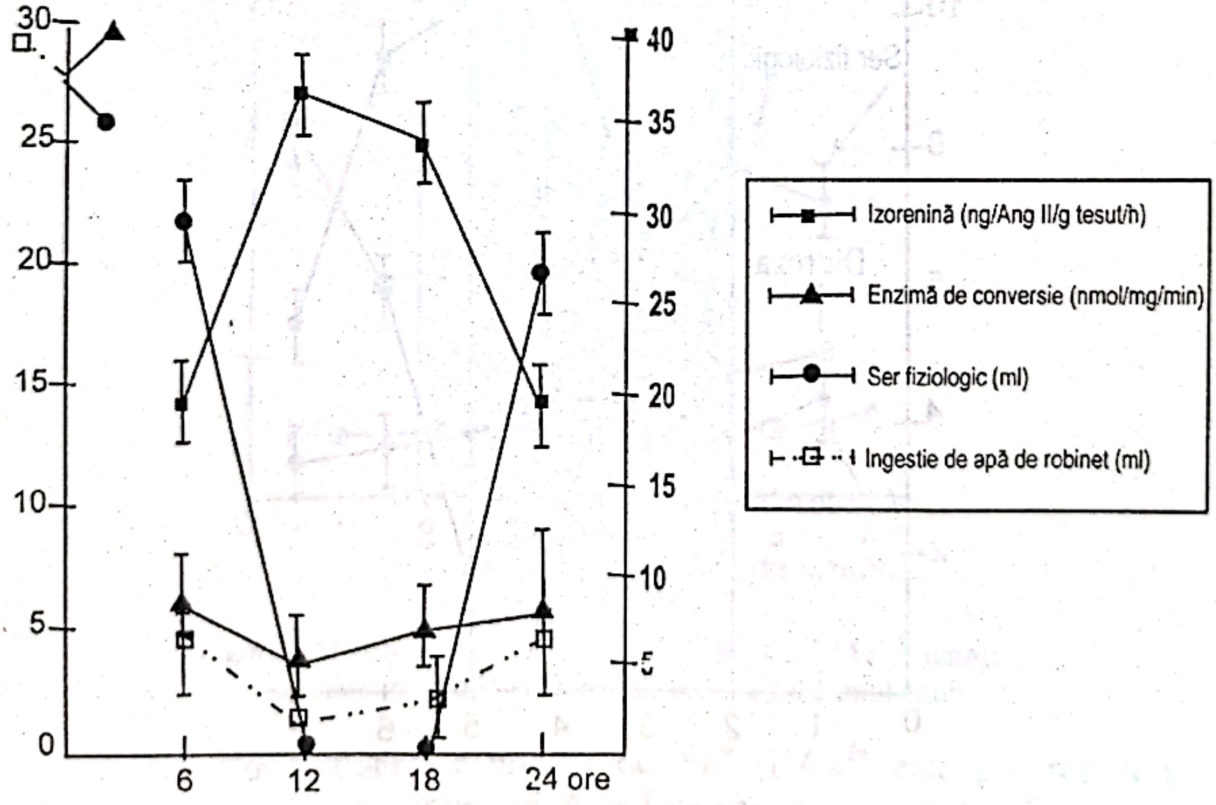


Figura 2.17. Reprezentare comparativă a nivelului izoreninei şi enzimei de conversie hipotalamice cu ingestia nictemerală de lichide la şobolanul adult.

Scanned with OKEN Scanner

O modalitate de apreciere a participării sistemelor izorenină - angiotensină cerebrale în controlul balanţei hidroelectrolitice ar consta în blocarea unei etape din cascada formării de angiotensine locale. În acest scop s-a utilizat şi captoprilul, inhibitor al enzimei de conversie a Ang I în Ang II sau Ang III.

În vederea realizării unui proces constant de inhibiţie a enzimei de conversie doar la nivelul structurilor cerebrale, captoprilul a fost administrat icv în cantitate (40 µg/kg) care să-şi manifeste efectele la nivel central, dar care să nu poată influenţa activitatea SRA circulant prin trecerea sa din LCR în circulaţia sistemică. Administrarea captoprilului icv s-a realizat în mod repetat în cursul unui nictemer astfel încât să se blocheze permanent (în perioada experimentelor) formarea de angiotensine biologic active [384].

Captoprilul astfel administrat reduce semnificativ ingestia spontană de soluţie de NaCl 9 ‰ în timp ce cantitatea de apă de robinet nu a fost influenţată semnificativ (figura 2.18.).

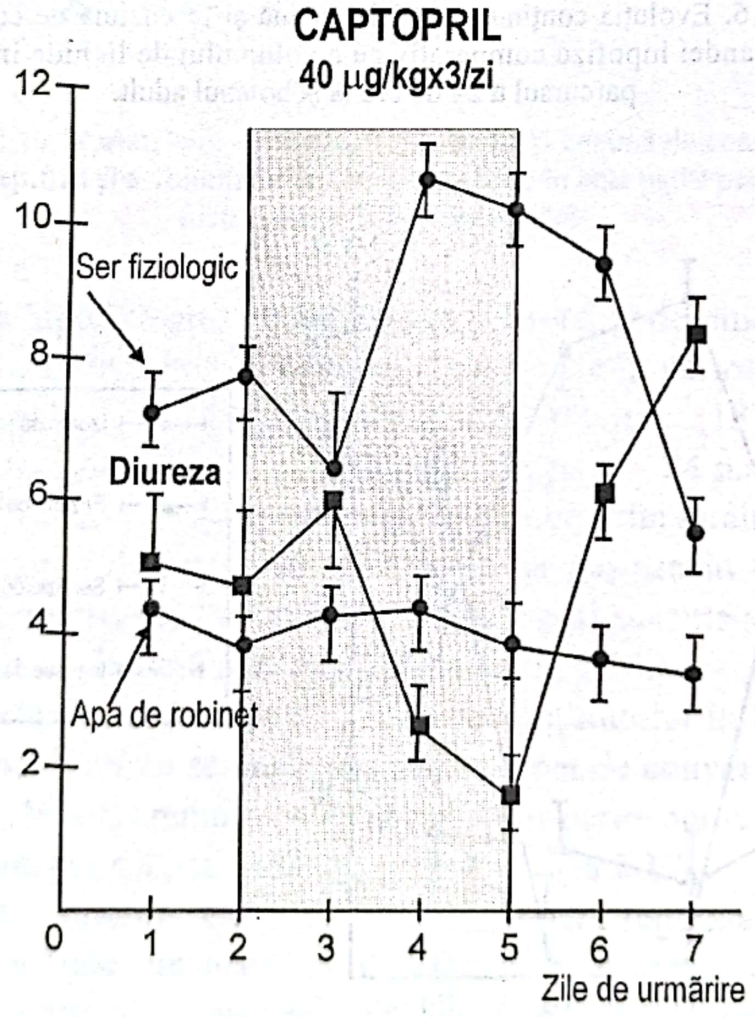


Figura 2.18. Evoluţia comparativă a ingestiei de lichide şi a diurezei în cursul tratamentului cu captopril administrat i.c.v. la şobolanul adult.

Scanned with OKEN Scanner

Scăderea ingestiei de soluţie salină s-a instalat după aproximativ 12–18 ore de la începerea tratamentului, s-a acentuat în zilele următoare şi a revenit la valoarea iniţială după aproximativ 36–48 ore de la oprirea tratamentului cu inhibitorul enzimei de conversie.

În contrast cu reducerea volumului de lichide ingerate (în special NaCl 9 %o), cantitatea de urină eliminată creşte încă din prima zi de administrare a captoprilului, este mai evident în ziua a doua şi persistă încă aproximativ 24 ore după întreruperea tratamentului respectiv.

Administrarea i.c.v. de captopril reduce brutal natriuria şi calciuria în timp ce eliminările de K^+ şi Mg^{2+} nu au fost influenţate semnificativ (figura 2.19.).

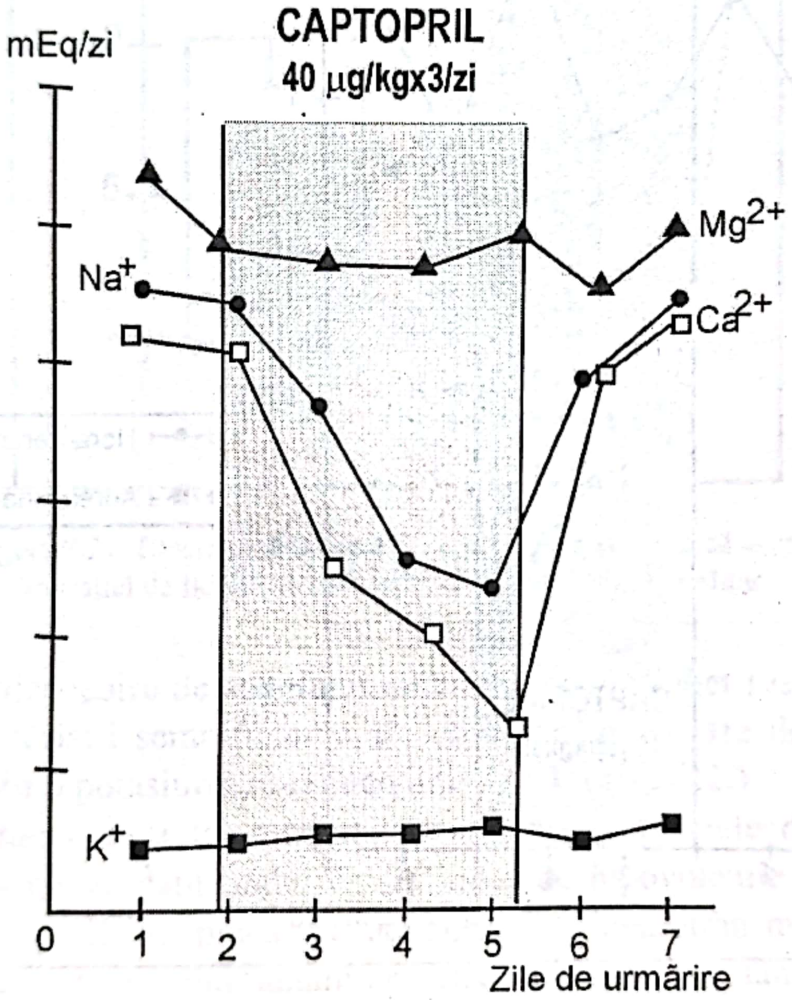


Figura 2.19. Eliminările urinare de Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} înainte şi după administrarea i.c.v. de captopril la şobolanul adult.

Scăderea eliminărilor urinare de Na^+ şi Ca^{2+} este progresivă în perioada de inhibiţie a conversiei Ang I cerebrală, se instalează odată cu instituirea tratamentului şi dispare progresiv după încetarea administrării captoprilului [385].

Scanned with OKEN Scanner

Influenţarea funcţiei renale de către sistemul renină-angiotensină cerebral se realizează prin intermediul structurilor simpatice centrale fapt dovedit şi de modificările eliminărlor urinare de catecolamine (figura 2.20.).

Deosebit de interesante sunt observaţiile făcute asupra tabloului metabolismului hidroelectrolitic la şobolanii cu diabet insipid ereditar (Brattleboro) ca urmare a influenţelor realizate de SRA la nivelul structurilor nervoase centrale [410].

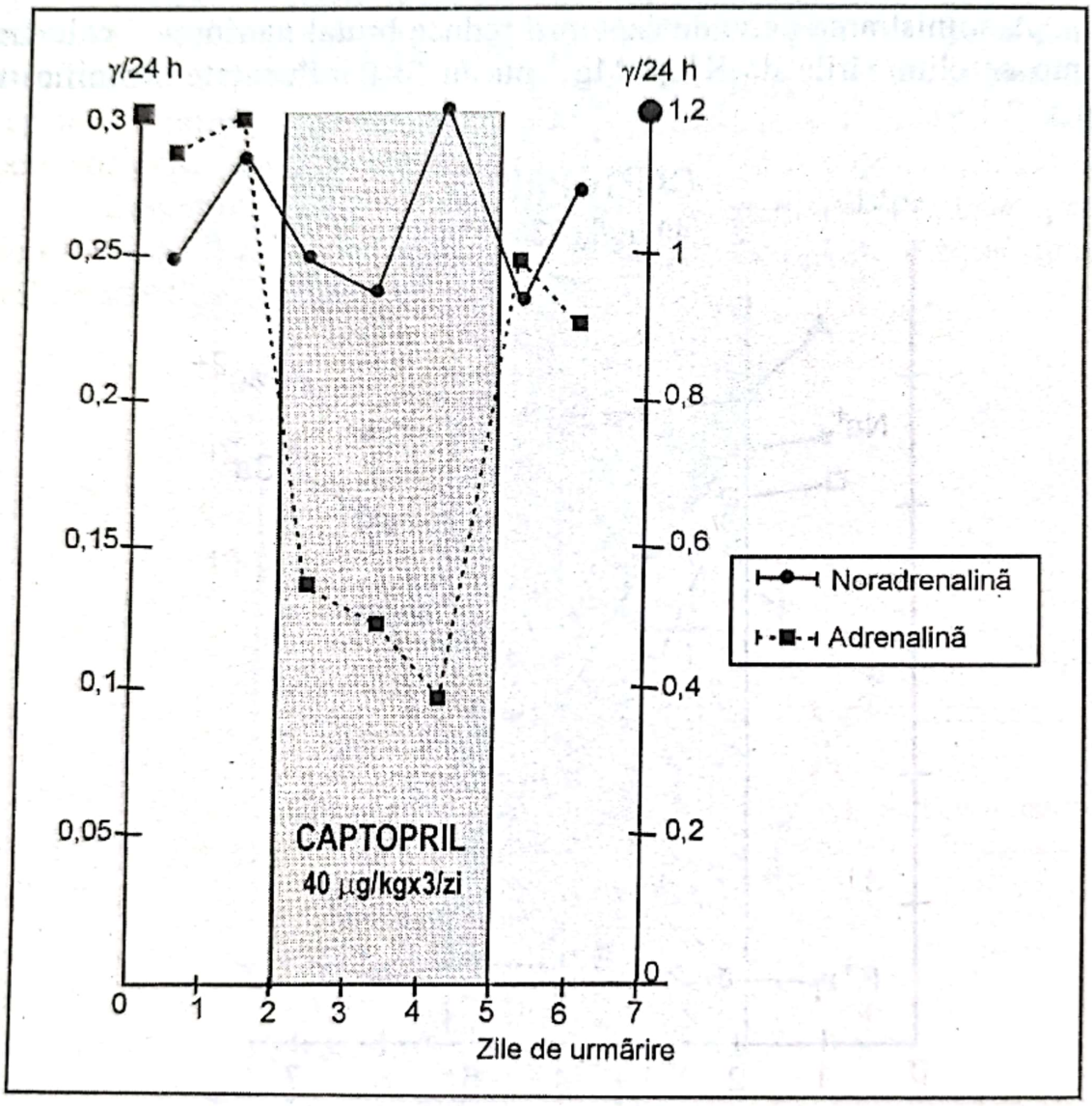


Figura 2.20. Evoluţia eliminărilor urinare de catecolamine ca urmare a inhibiţiei conversiei Ang I cerebrale.

Angiotensina II sintetică administrată la şobolanii Brattleboro în doză subpresoare şi care nu poate influenţa în mod direct nici activitatea rinichiului stimulează ingestia de lichide tot proporţional cu cantitatea de peptid administrat, fără să modifice semnificativ diureza (figura 2.21.).

Scanned with OKEN Scanner

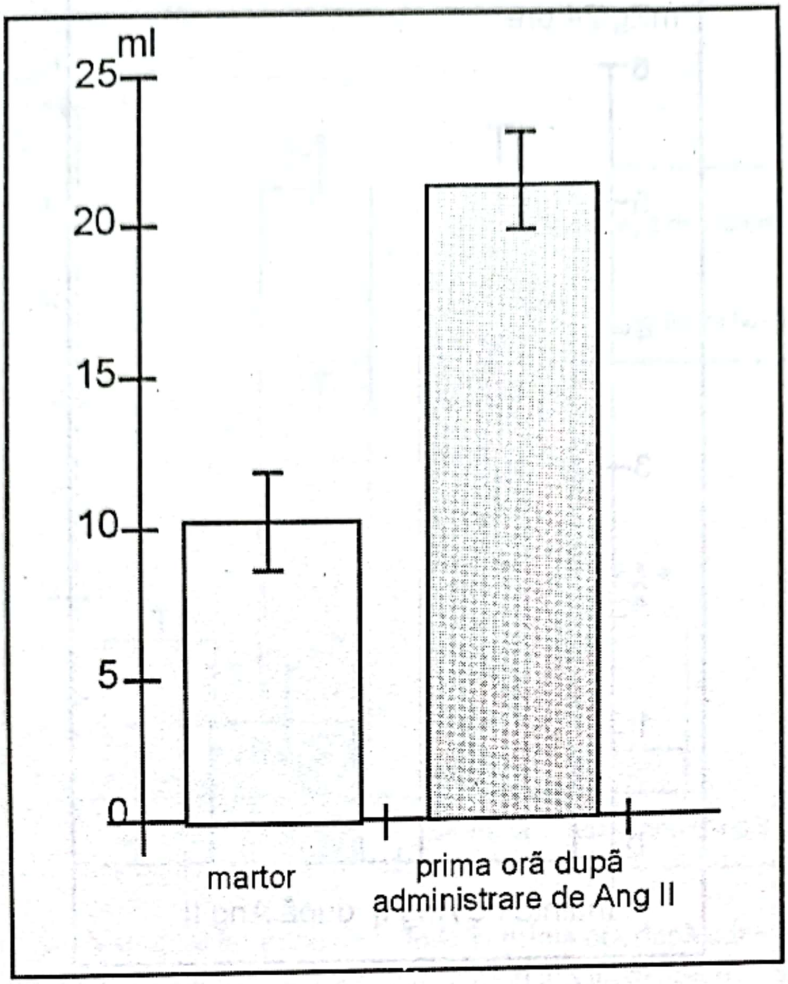


Figura 2.21. Efectele administrării i.c.v. de Ang II sintetică asupra ingestiei de lichide la şobolanul cu diabet insipid ereditar.

Spre deosebire de şobolanii indemni cei cu diabet insipid ereditar nu prezintă variaţii semnificative ale eliminărilor urinare de Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, în schimb potasiuria se reduce drastic (figura 2.22.)

Descrierea circuitelor neuronale implicate în fazele de iniţiere şi desfăşurare a comportamentului dipsic indus de hipovolemie oferă suport părerii că Ang II ar putea să acţioneze ca neurotransmiţător şi/sau neuromodulator la nivelul anumitor relee implicate în lanţul neuronal respectiv. Nu este exclus ca activitatea neuronilor din aceste lanţuri fie că sunt angiotensinergici, fie că folosesc alţi transmiţători să poată fi modulată de o serie de factori biologic activi, eliberaţi în zonă. Între aceşti factori, derivaţii purinergici sunt cel mai de conceput ca având posibilitatea de a interveni, pe de o parte datorită faptului că se sintetizează atât în neuroni centrali, cât şi periferici, iar pe de altă parte pentru că sunt cunoscuţi ca factori cotransmiţători şi/sau modulatori ai trasmiterii sinaptice.

Scanned with OKEN Scanner

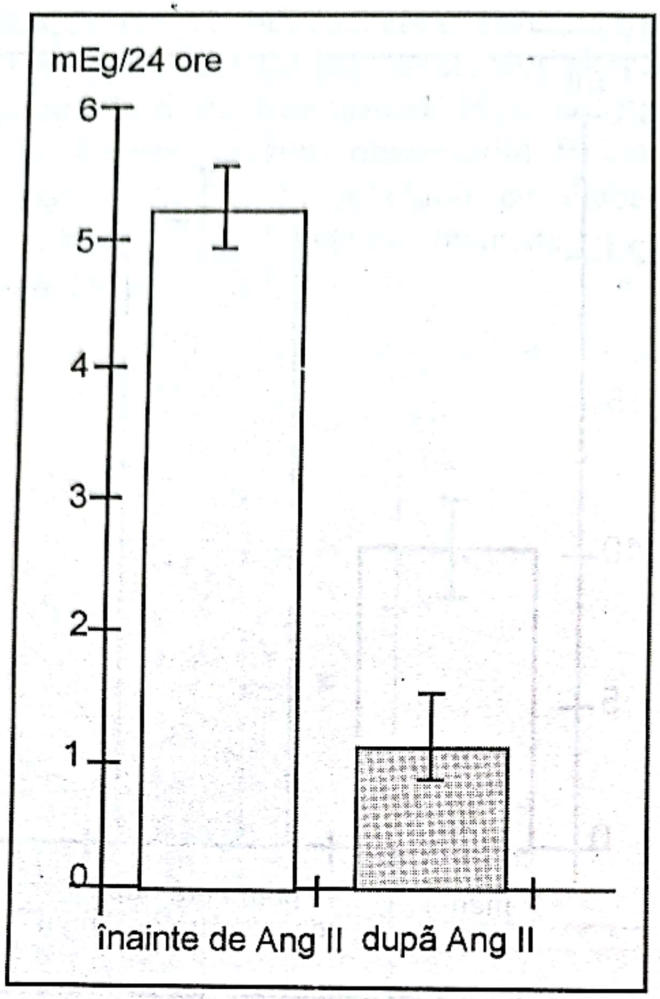


Figura 2.22. Eliminările cotidiene urinare spontane şi Ang II induse de K^+ în urină la şobolanii Brattleboro.

De altfel, însăşi adenozina şi agoniştii specifici receptorilor purinergici administrate i.c.v. în doze cvasifiziologice influenţează balanţa hidroelectrolitică normală sau Ang II modificată a şobolanului. Astfel, adenozina reduce ingestia de clorură de sodiu atât spontană şi mai ales Ang II stimulată la şobolanii menţinuţi în condiţii standard de hrană şi lichide *ad libitum* (figura 2.23.) [386].

Este de semnalat că efectele adenozinei se instalează după o perioadă de latenţă mult mai îndelungată (15–30 minute) şi persistă şi în următoarele patru ore ale nictemerului [387] (figura 2.24.).

Adenozina scade diureza, natriureza şi kaliureza atât faţă de perioada martor cât şi Ang II influenţate (figura 2.25., figura 2.26., figura 2.27.)

În sistemul nervos central s-au pus în evidenţă cel puţin două tipuri de receptori purinergici, receptorii A_1 care după activare inhibă activitatea adenilatciclazei membranare şi scad astfel nivelul cAMP intracelular şi receptorii A_2 care stimulează activitatea adenilatciclazei şi creşterea consecutivă a producerii de cAMP.

Scanned with OKEN Scanner

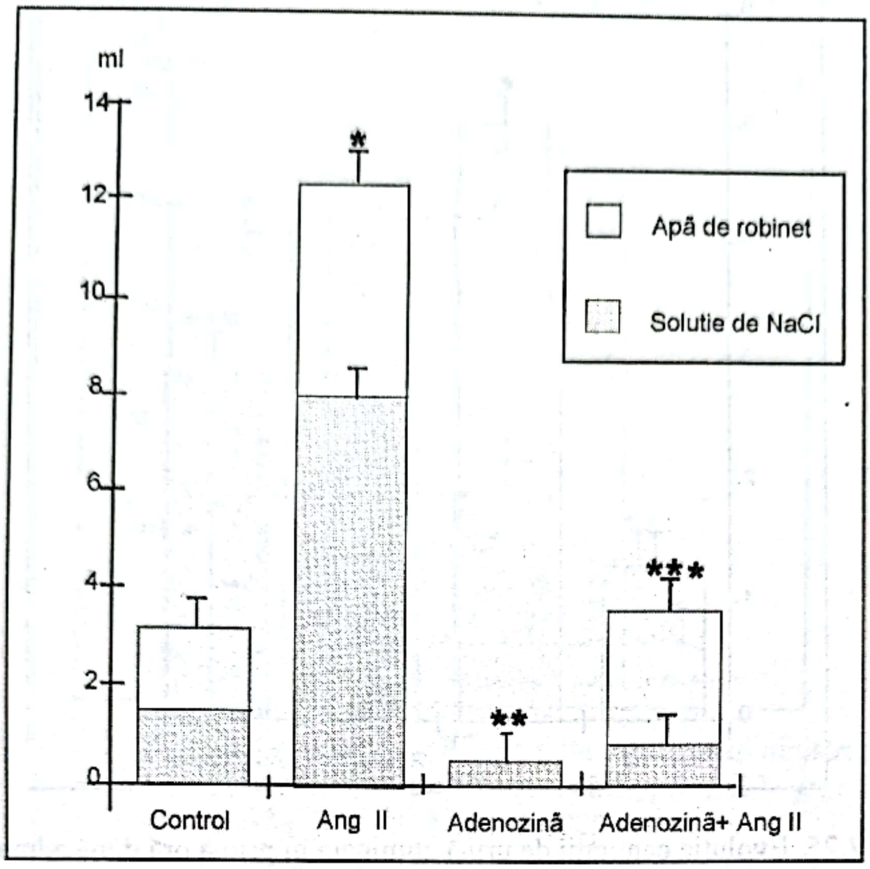


Figura 2.23. Variaţiile ingestiei de lichide în prima oră după administrarea i.c.v. de adenozină şi succesiv de adenozină şi angiotensină II la şobolan (* $p < 0,0005$;** $p < 0,001$; *** $p < 0,0001$).

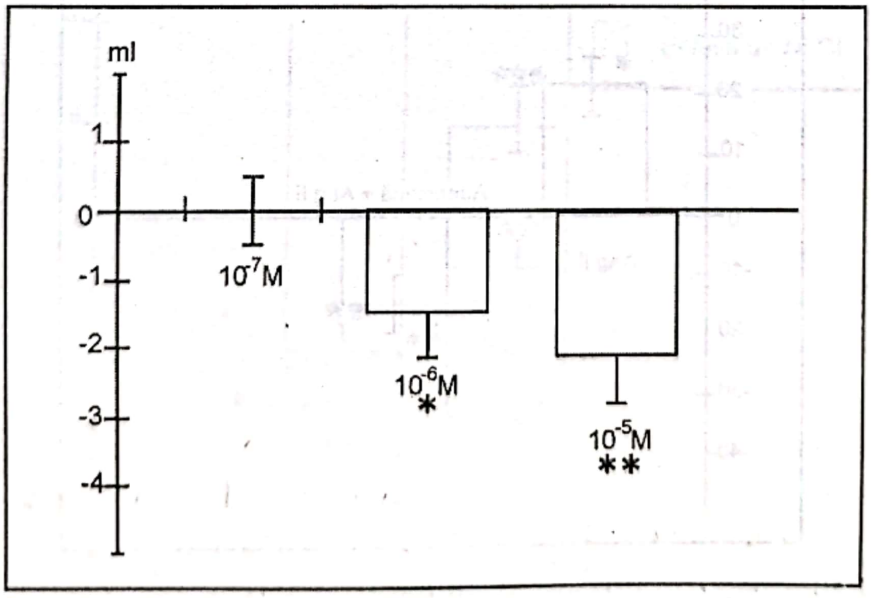


Figura 2.24. Ingestia de lichide în primele 4 ore după administrarea i.c.v. de adenozină (* $p < 0,01$; ** $p < 0,005$).

Scanned with OKEN Scanner

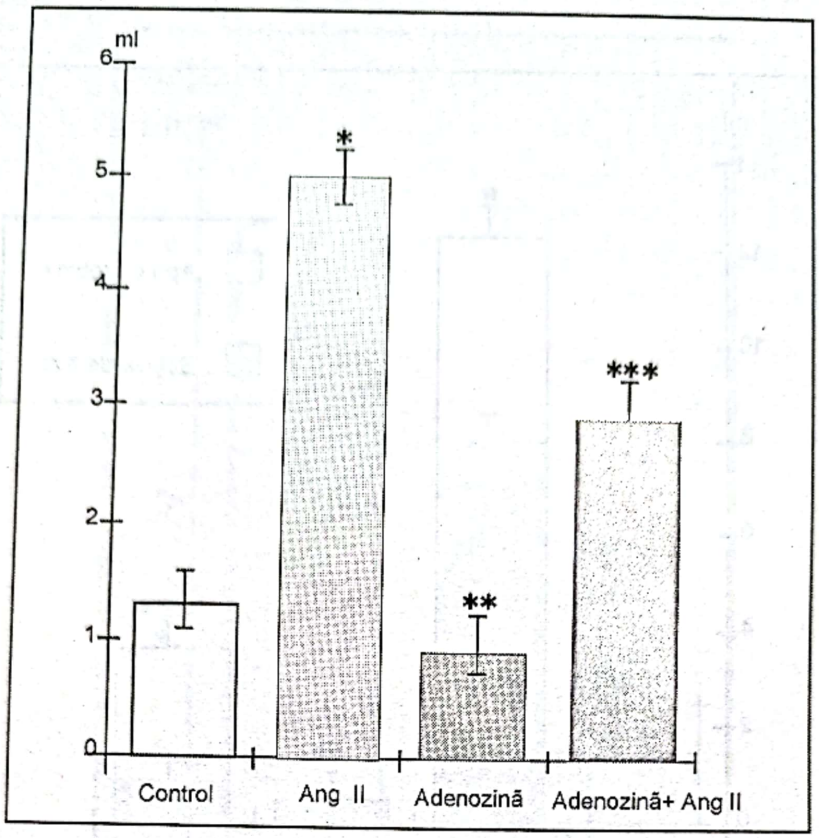


Figura 2.25. Evoluția cantității de urină eliminată în prima oră după administrarea i.c.v. de Ang II, adenozină şi succesiv adenozină şi Ang II la şobolanul adult.

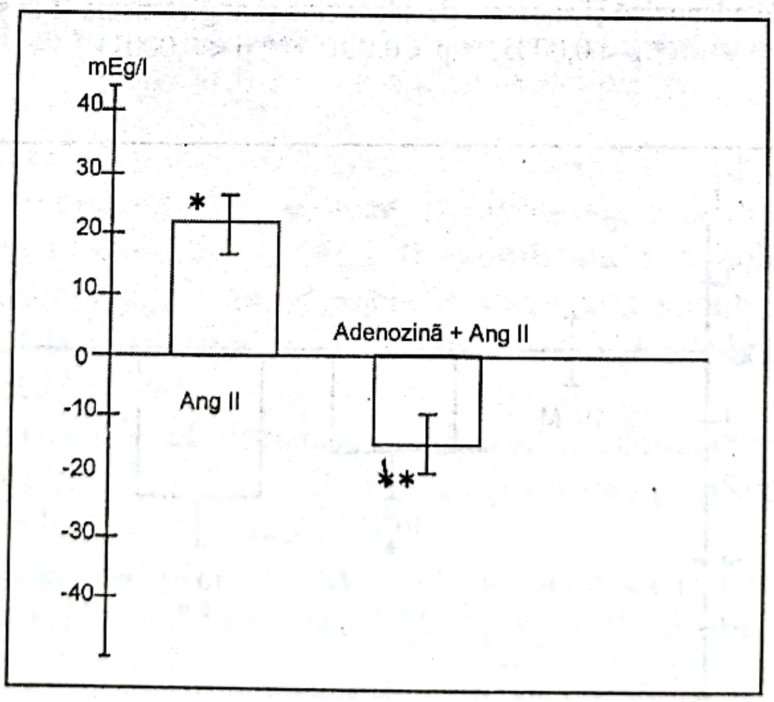


Figura 2.26. Natriureza în primele 4 ore după administrarea i.c.v. de Ang II şi succesiv adenozină şi Ang II față de perioada de control la şobolanul adult (* $p < 0,005$; ** $p < 0,001$).

Scanned with OKEN Scanner

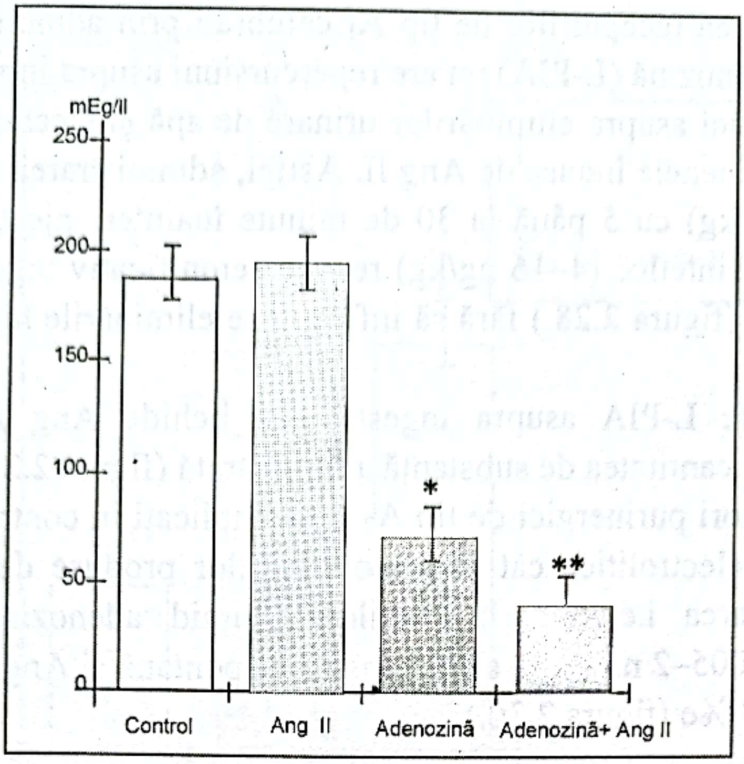


Figura 2.27. Eliminările urinare de K^+ în prima oră după administrarea i.c.v. de Ang II, adenozină şi succesiv adenozină şi Ang II la şobolan (* $p < 0,001$; ** $p < 0,0005$).

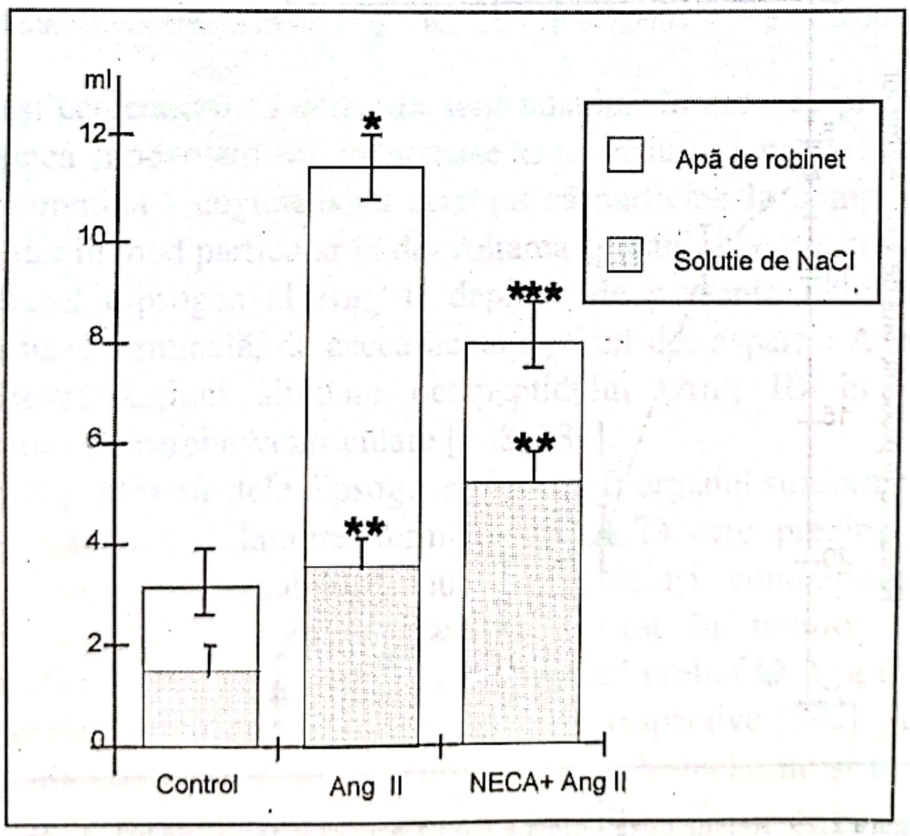


Figura 2.28. Ingestia de lichide în prima oră după administrarea consecutivă i.c.v. de L- PIA şi Ang II (* $p < 0,0005$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,05$).

Scanned with OKEN Scanner

Activarea receptorilor de tip A_1 cerebrali prin administrare i.c.v. de L-izopropiladenozină (L-PIA) nu are repercursiuni asupra ingestiei spontane de lichide şi nici asupra eliminărilor urinare de apă şi electroliţi, în schimb modifică fenomenele induse de Ang II. Astfel, administrarea i.c.v. de L-PIA (0,05 – 5 nM/kg) cu 5 până la 30 de minute înaintea injectării pe aceeaşi cale a Ang II sintetice (4–16 ng/kg) reduce semnificativ ingestia de lichide Ang II indusă (figura 2.28.) fără să influenţeze eliminările hidroelectrolitice urinare.

Efectele L-PIA asupra ingestiei de lichide Ang II indusă sunt dependente de cantitatea de substanţă administrată (figura 2.29.).

Receptori purinergici de tip A_2 sunt implicaţi în controlul spontan al balanţei hidroelectrolitice cât şi a modificărilor produse de către Ang II. Astfel, injectarea i.c.v. de 5-N–etilcarboxamid adenozină (NECA) în cantitate de 0,005–2 nM/kg a scăzut ingestia spontană şi Ang II stimulată de soluţie NaCl 9 %o (figura 2.30.)

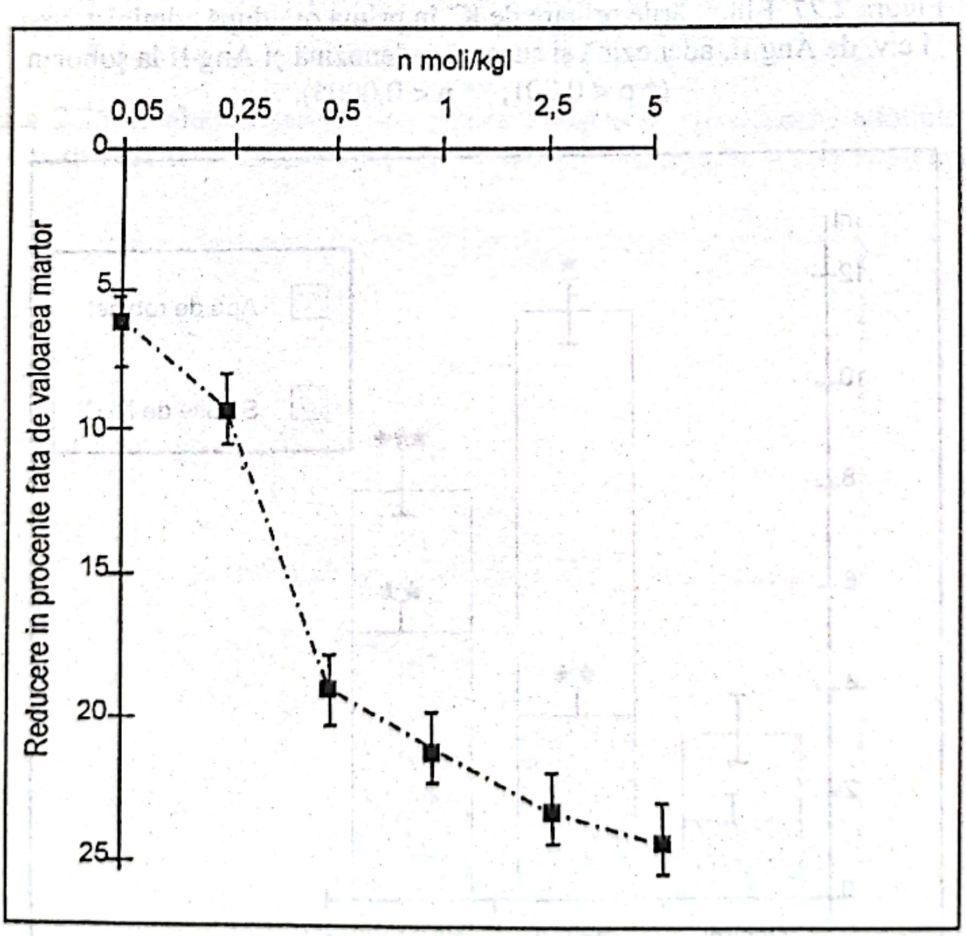


Figura 2.29. Relaţia doză - efect a L-PIA asupra ingestiei de lichide Ang II induse la şobolanul adult.

Scanned with OKEN Scanner

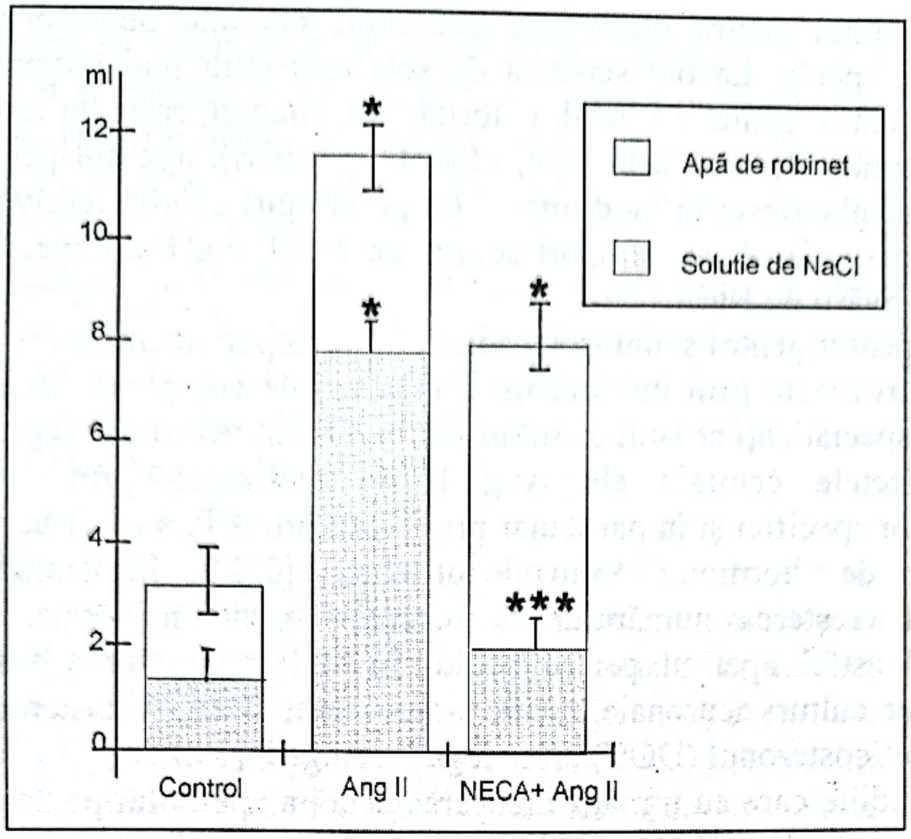


Figura 2.30. Influența NECA asupra ingestiei spontane de lichide și a tratamentului succesiv NECA – Ang II asupra dipsogenezei la șobolanul adult în prima oră după administrarea substanțelor (* $p < 0,005$; ** $p < 0,0005$; *** $p < 0,0001$).

Deşi cercetătorii în domeniu sunt unanimi în ceea ce priveşte rolul SRA în setea hipovolemică, numeroase date includ şi posibilitatea ca şi sistemul izorenină - angiotensină cerebral să participe la comportamentul dipsogen, dar în mod particular în dezvoltarea apetitului pentru sodiu.

Efectul dipsogen al Ang II depinde de prezența fenilalaninei în poziția carboxi terminală, de aceea heptapeptidul des-aspartic Ang II (Ang III) realizează acțiuni similare octapeptidului (Ang II) în condițiile administrării intracerebroventriculare [388, 389].

Dacă pentru efectele dipsogene ale Ang II organul subfornical (SFO) şi organul vascular al laminei terminale (OVLT) care prezintă capilare fenestrate sunt indispensabile, inducerea aceluiaşi comportament prin injectarea octapeptidului în structuri care sunt în interiorul barierei hematoencefalice (aria preoptică la câine) scoate în relief că Ang II generată de SRA cerebral este responsabilă de acțiunile respective [390]. Adăugând şi observațiile că Ang II a fost evidențiată imunohistochimic şi în structuri implicate în controlul balanței hidroelectrolitice (lamina terminalis şi hipotalamusul) întregim tabloul părerilor în favoarea rolului Ang II cerebrale în reglarea volumului sanguin, presiunii arteriale etc. [391].

Scanned with OKEN Scanner

Apetitul pentru sodiu este mai mult sau mai puţin dezvoltat în funcţie de specie. La om senzaţia de sete este mult mai puternică decât apetitul pentru sodiu probabil datorită alimentaţiei sale. În schimb, în anumite condiţii (sarcină, lactaţie, efort fizic intens), apetitul pentru sodiu poate să se manifeste în mod intens. La polul opus se află ierbivorele care prin hrana specifică au un aport scăzut de NaCl, ele fiind specializate în evitarea privării de NaCl.

Apetitul pentru sodiu se încadrează în comportamentele organismelor care sunt realizate prin mecanisme neuroumorale complexe declanşate de receptori specializaţi ce sunt distribuiţi în diverse structuri din organism.

Efectele centrale ale Ang II se realizează prin intermediul receptorilor specifici şi în particular prin receptorii AT_1 a căror activare este modulată de hormonii mineralocorticoizi [392]. Mineralocorticoizii determină creşterea numărului de receptori angiotensinergici în SNC, stimulând astfel apetitul pentru sodiu. Efectul modulator a fost pus în evidenţă pe culturi neuronale în care s-a observat că atât aldosteronul, cât şi dezoxi-corticosteronul (DOC) cresc legarea Ang II [393].

Studiile care au urmărit inducerea acută a apetitului pentru sodiu au precizat că atât Ang II cât şi aldosteronul pot acţiona independent în acest sens, dar întotdeauna sinergic [394, 395, 396].

Intervenţia Ang II cerebrală în controlul apetitului pentru sodiu se manifestă încă din primele zile de viaţă postnatală (ziua a 3-a), fapt demonstrat de creşterea selectivă a ingestiei de soluţie salină şi nu de lapte ca urmare a administrării icv a octapeptidului [397]. Sinergismul de acţiune între Ang II şi aldosteron în controlul apetitului pentru sodiu apare însă din a 17 —18 – a zi după naştere. [398].

În multe condiţii ecologice necesarul de sodiu al unui organism se asigură prin regimul alimentar. Prevenirea încărcării sodate cade însă în sarcina rinichiului, care excretă sau reţine sodiul în funcţie de necesităţi. Administrarea icv de Ang II are însă efect natriuretic [384, 399, 400, 401].

Controlul central al eliminărilor de sodiu prin urină implică mai multe structuri incluse în lanţuri neuronale complexe, fapt probat de reducerea atât a eliminărilor spontane de sodiu prin urină la şobolanul indemn, cât şi a efectului natriuretic Ang II indus dacă se administrează i.c.v. adenozină sau agonişti ai receptorilor purinergici [402].

Acţiunile Ang II cerebrale prezintă interrelaţii cu multipli factori biologic activi din SNC. Astfel, pretratarea i.c.v. cu 6-hidroxidopamină reduce foarte mult efectul dipsogen al Ang II, dar nu îl influenţează pe cel determinat de carbacol [403]. Reducerea ingestiei lichidiene Ang II indusă astfel prin depleţia catecolaminică este înlăturată după transplantarea în nucleii diencefalici de suspensie de celule catecolaminergice [404].

Scanned with OKEN Scanner

Receptorii adrenergici din hipotalamus modulează atât răspunsul dipsogen, cât şi cel presional al Ang II. Norepinefrina potenţează răspunsul dipsogen al Ang II prin intermediul receptorilor alfa1 – adrenergici în timp ce activarea receptorilor alfa2 – adrenergici inhibă tonic eliberarea de noradrenalină şi implicit acţiunile potenţatoare ale octapeptidului [405].

Dopamina intervine, de asemenea, în mecanismele de control ale metabolismului hidroelectrolitic Ang II – dependente în special în cel de eliberare a vasopresinei. Haloperidolul administrat i.c.v. inhibă nu numai efectul vasopresin – eliberator al dopaminei, ci şi pe cel indus de injectarea pe aceeaşi cale a Ang II [406].

Interacţiunea dopamină-Ang II s-ar realiza la nivelul organului vascular al laminei terminale, parte integrantă a circuitelor neuronale implicate în controlul central al metabolismului hidroelectrolitic, neuronii din această structură fiind sensibili atât la dopamină, cât şi la Ang II [407].

Nu trebuie exclusă intervenţia sistemului simpatico-adrenergic nici în procesul de modulare a natriurezei de către Sizo-RA cerebral deoarece scăderea eliminărilor urinare de sodiu produse prin inhibarea cronică a conversiei Ang I în angiotensine biologic active la nivel cerebral se însoţeşte de scăderea nivelului catecolaminelor din urină [384].

Efectul de stimulare a secreţiei de vasopresină de către Ang II este de asemenea un exemplu viu discutat privind interacţiunile multiple dintre octapeptid şi vasopresină cu rol în controlul balanţei hidroelectrolitice [408].

Peptidele natriuretice par să dezvolte corelaţii funcţionale strânse cu Ang II cerebrală. Factorul natriuretic atrial şi peptidul natriuretic cerebral pe de o parte şi Ang II pe de altă parte au nu numai acţiuni antagonice la nivelul efectorilor, ci şi efecte inhibitoare mutuale [409].

Interacţiuni între sistemul renină-angiotensină renal şi cel cerebral cu implicaţii în controlul metabolismului hidroelectrolitic sunt sugerate de numeroase cercetări. Renina dintr-una din surse poate fi mai importantă decât din cealaltă sursă în funcţie de dezechilibrul care apare în organism.

Sistemul renină-angiotensină renal răspunde mai prompt şi are intervenţie predominantă în condiţii de hipovolemie care se instalează rapid. El intervine asupra centrilor nervoşi prin stimularea organului subfornical şi al organului vascular al laminei terminale (figura 2.31.).

Intervenţia directă a SRA circulant în controlul apetitului pentru sodiu este incertă, dar prin intermediul acţiunii de stimulare a secreţiei de aldosteron intervine în mod indirect întrucât acest hormon are acţiune sinergică şi în acelaşi timp amplifică efectele Ang II cerebrale la nivelul hipotalamusului. Deci, stimularea apetitului pentru sodiu pare să fie rezultatul acţiunii Ang II generată local în creier.

Scanned with OKEN Scanner

De fapt, atât setea, cât şi apetitul pentru sodiu au mecanisme de control nervoase în care SRA pare a interveni dacă nu în calitate de neurotransmiţător cel puţin ca neuromodulator.

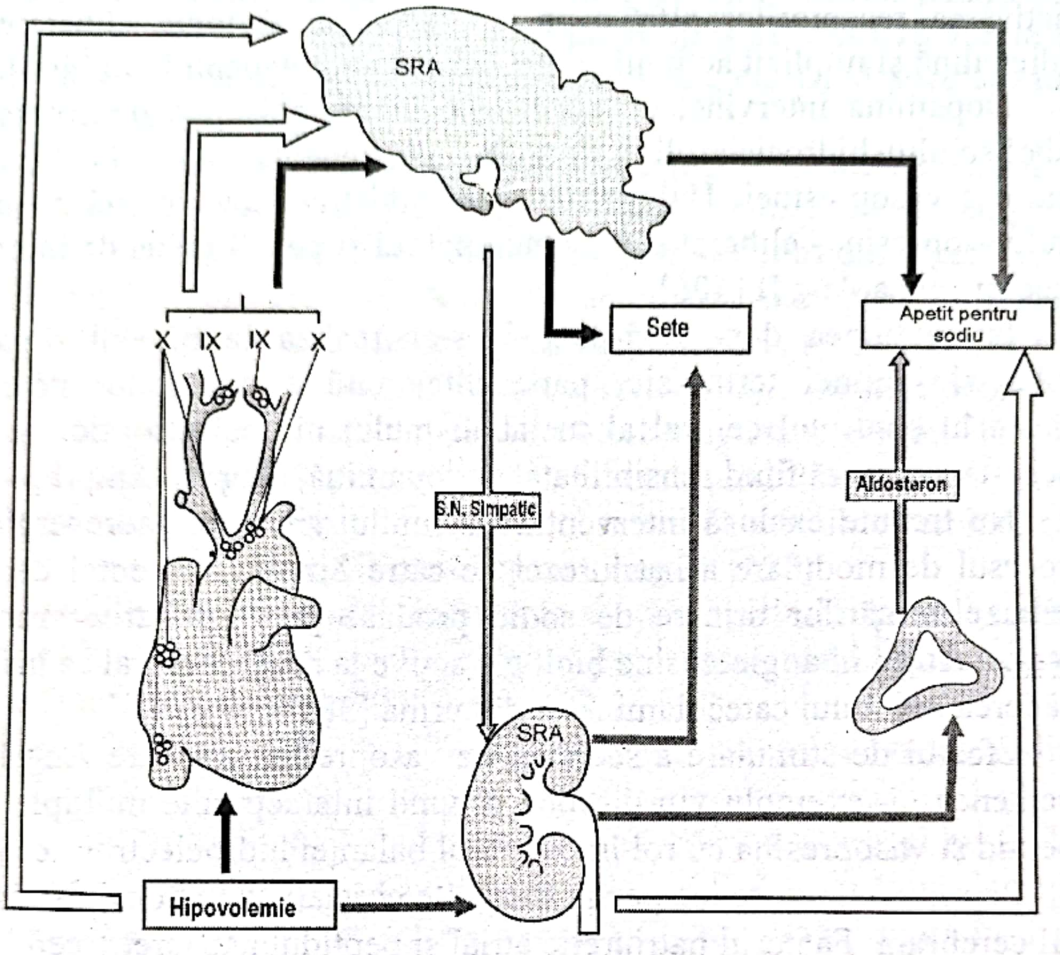


Figura 2.31. Posibile intervenţii ale SRA renal şi cerebral în procesul de stimulare a centrilor nervoşi cu rol în controlul metabolismului hidroelectrolitic în condiţii de hipovolemie (după Fitzsimmons, 1993) (săgeată neagră - căi neuronale; săgeată umbrită - căi angiotensinergice; săgeată albă - căi incerte).

Bibliografie:

1. Kill F., Kjekshus J., Lyning E. Acta physiol scand., 1969, 76, 10–15.
2. Kincaid – Smith P., Friedman A., Hobbs J.B. Angiotensin – Springer Verlag, 1974.
3. Klein G.L., Mills I.H., Wilson R.J. J. Physiol., 1971, 215, 43 P.
4. Koch – Weser J. Circulat Res., 1964, 14, 337–358.
5. Koch – Weser J. Circulat Res., 1965, 16, 230–247.
6. Kolessky S., Rivera – Velaz J.M., Pritchard W.H. Arch Path, 1966, 82, 99–112.
7. Henderson I.W., Deacon I. In: The renin - angiotensin system edited by J.S. Robertson and M.G. Nicholls, Gower Medical Publishing London - New York, 1993
8. Bruhl U., Taugner R., Forssmann W.G. Cell Tiss Res., 1974, 151, 433–456.

Scanned with OKEN Scanner

88. Walter P., Bassenge A. Pflugers Arch ges Physiol, 1969, 307: 70–83.
89. Palaic D., Lemorvan P. J Pharmacol exp Ther, 1971, 179: 522–531.
90. Pals D.T., Fulton RW., Masucci FD. J Pharmacol exp Ther., 1968, 162: 85–93.
91. Thind GS., Peterson LH. J Clin Invest.,1968, 47: 96a
92. Mazurkiewicz – Kwilecki I.M. Arch Int Pharmacodyn., 1968, 174: 199–211.
93. Ayers AB., Davies BN., Withrington PG. Brit J Pharmacolab. 1970, 40: 575P
94. Mc Neill JR., Stark RD., Greenway CV. Amer J Physiol., 1970, 219: 1342–1347.
95. Voth D., Agsten M., Schipp R., Lubke H. Arch Kreisl – Forsch, 1971, 65: 41–55
96. Ward CO., Gantieri RF. J Pharmac Sci, 1969, 58: 592–596.
97. Day MD., Owen DAA. Brit J Pharmacol, 1970, 39: 413–421.
98. Chryssanthou C., Nelson E., Teichner F., Antopol W. Fed Proc., 1971, 30: 450.
99. Disalvo J., Fell C. Proc Soc exp Biol (NY), 1970, 133: 1432.
100. Drimal J. Europ J Pharmacol, 1968, 5: 56–64.
101. Brunner HR, Laragh J., Baer L., Newton M., Goodwin F., Krakoff L., Bard R., Buhler F. New Engl J Med, 1972b, 286: 441–449.
102. Brunner HR, Chang P., Wallach R., Sealey JE., Laragh J.H. J Clin Invest, 1972, 51: 58–64.
103. Bohr DF. Angiotensin – Springer Verlag, 1974, 424–440.
104. Panisset JC., Bourdois P. Canad J Physiol Pharmacolab., 1968, 46: 125–134.
105. Khairallah PA, Page IH, Bumpus FM, Turker RK. Circulat Res, 1966, 19: 247–256.
106. Kadowitz PJ., Sweet CS., Brody MY. J Pharmacol Exp Therap., 1971, 176: 167–168.
107. Worcel M., Meyer P., d'Auriac GA., Papanicolau N., Milliez P. Circulat Res, 1970, 26–27 (suppl II): II223.
108. Geller RG., Kendrick JE. Proc Soc exp Biol Med, 1968, 129: 727–735
109. Dyer DC. J Pharmacol exp Ther, 1970, 175: 565–674.
110. Korner PI., Stokes GS., White SW., Chalmers JP. Circulat Res., 1967, 20: 676–688.
111. Bohr DF., Uchida E. Circulat Res, 1967, 20–21 (suppl II): II-135.
112. Godfraind T. Brit J Pharmacol., 1970, 40: 542–547.
113. Gough ED., Dyer DC. Amer J Obstet Gynec, 1971, 110: 625–634.
114. Sancetta SM. Circul Res, 1960, 8: 616–620.
115. Altura BM., Altura BT. Amer J Physiol., 1970a, 219: 1968–1907.
116. Blair – West JR., Harding R., McKenzie JS. Europ J Pharmacolab., 1968, 4: 77–85.
117. Lumbers ER., Whalen R. Cardiovasc Res., 1970, 4: 312–318.
118. Goodfriend TL., Lin SY. Circulat Res., 1970, 26 – 27 (suppl I): 163–168.
119. Godfraind T. Arch Int Pharmacodyn, 1968, 176: 464–471.
120. Jarhult J. Acta Physiol Scand, 1971, 81: 315–321.
121. Hedwall PR., Abdel – Sayed WA., Schmidt PG., Abboud FM. Proc Soc exp Biol, NY, 1970, 135: 757–762.
122. Hyman A. J Pharmacol exp Ther, 1969, 165: 87–92.
123. Somlyo AP., Somlyo AV. Am Heart J, 1966, 71: 568–570.
124. Khairallah PA., Page IH., Bumpus FM., Turker RK. Circulat Res., 1966, 19: 247–256.
125. Page IH., McCubbin JW., Schwarz H., Bumpus FM. Circulation Res., 1957, 5: 552–554.
126. Gross F., Bock KD., Turrian H. Helv Physiol Pharmacol Acta, 1961, 19: 42–57.
127. Bock KD., Gross F. Circul Res, 1961, 9, 1044–1050.
128. Haas E., Goldblatt H., Lewis L., Gipson EC. Amer J Physiol., 1968, 215: 1420–1423.
129. Hodge RL., Ng KKF, Vane JR. Nature (Lond), 1967, 215: 138–141.
130. Bock KD. Angiotensin, Pharmakol. U. Klin. Anw. Heidelberg: Huthig, 1966

Scanned with OKEN Scanner

401. Unger T, Rascher W, Schuster C, Pavlovitch R, Schoming A, Dietz R, Ganten D. Eur J Physiol., 1981; 253: H392–399.
402. Slatineanu SM. Implicații normale și patologice ale neuropeptidelor cerebrale în reglarea hidroelectrolitică. Teză de doctorat, 1993.
403. Fitzsimonds JT, Setler P. J Physiol., 1975; 218: 613–8.
404. McRae – Deguerce A., Bellin SI, Landas SK, Johnson AK. Brain Res., 1986; 374: 162–6.
405. Jones CW, Pickering BT. J Physiol., 1969; 203: 449–458.
406. Yamaguchi K, Karakida T, Koike M, Hama H. Acta Endocrinol (Copenh), 1988; 118: 82–8.
407. Fregly MJ, Rowland NE. Am J Physiol., 1985; 247: 1–11.
408. Greger R. In: Greger R, Windhorst U eds. Comprehensive Human Physiology, vol. 2, Springer – Verlag Berlin Heidelberg 1996: 1625–1647.
409. Phillips MI. Annu Rev Physiol., 1987; 49: 413–35.
410. Slătineanu SM, Boișteanu D, Costuleanu A. Homeostazia hidroelectrolitică. Ed Junimea, Iași, 1998

Scanned with OKEN Scanner

3. SISTEMUL RENINĂ - ANGIOTENSINĂ INTRARENAL

3.1. COMPONENTELE SISTEMULUI RENINĂ - ANGIOTENSINĂ LA NIVELUL RINICHIULUI

Este binecunoscut faptul că renina este sintetizată şi secretată în rinichi de un grup restrâns de celule specializate ce se găsesc în media vaselor de rezistenţă din acest organ. Nu este exclus ca numărul celulelor producătoare de renină să reflecte semnificaţia funcţională a SRA la diferitele specii animale, dar şi nivelul de activare a sistemului respectiv la acelaşi exemplar [1]. Aceste celule musculare netede nu diferă de cele prezente la nivelul altor artere de rezistenţă, dar au o plasticitate remarcabilă de a se converti în celule producătoare de renină când condiţiile o impun şi să se retransforme în miocite netede în momentul dispariţiei stimulilor secretori de renină [2, 3].

Prezenţa reninei şi în alte celule (miocite din arteriola eferentă, celule mesangiale, celule epiteliale din tubul proximal etc.) decât în celulele epitelioide juxtaglomerulare din arteriola aferentă pare să reprezinte rezultatul prelucrării substanţei respective de-a lungul nefronului.

Cea mai mare parte a Ang II prezentă în rinichi are origine renală [4, 5]. Renina secretată de celulele mioepiteliale juxtaglomerulare ajunge mai ales în spaţiul interstiţial din jurul vaselor şi în mai mică măsură în lumenul vascular. Din spaţiul interstiţial renina are acces către patul limfatic periarterial care este foarte bine reprezentat în jurul arterelor arcuate şi a arterelor radiale corticale şi comunică liber cu interstiţiul peritubular [6] (figura 3.1.).

În interstiţiul zonei corticale a rinichiului sunt prezente toate elementele componente ale SRA [7], aşa încât nu este exclus ca cea mai mare parte a Ang II prezentă în sângele din vene ca şi din limfa rinichiului să se producă în acest teritoriu [8].

Situsurile ţintă posibile pentru Ang II rezultată în urma activării intrarenale a SRA sunt celulele mesangiale, microcirculaţia medulară, tubii proximali şi arteriolele intrarenale (figura 3.2.).

Accesul Ang II la mesangium are loc mai ales prin procese de difuziune din spaţiul interstiţial, dar şi prin regiunea fenestrată a arteriolei afe-rente [1, 9].

Datele existente până în acest moment probează că situsurile receptoare pentru Ang II din „vasa recta" pot interacţiona doar cu Ang II produsă în circulaţia sistemică, în timp ce tubii proximali pot fi expuşi atât la Ang II produsă în interstiţiul cortical, cât şi din afara acestuia.

Scanned with OKEN Scanner

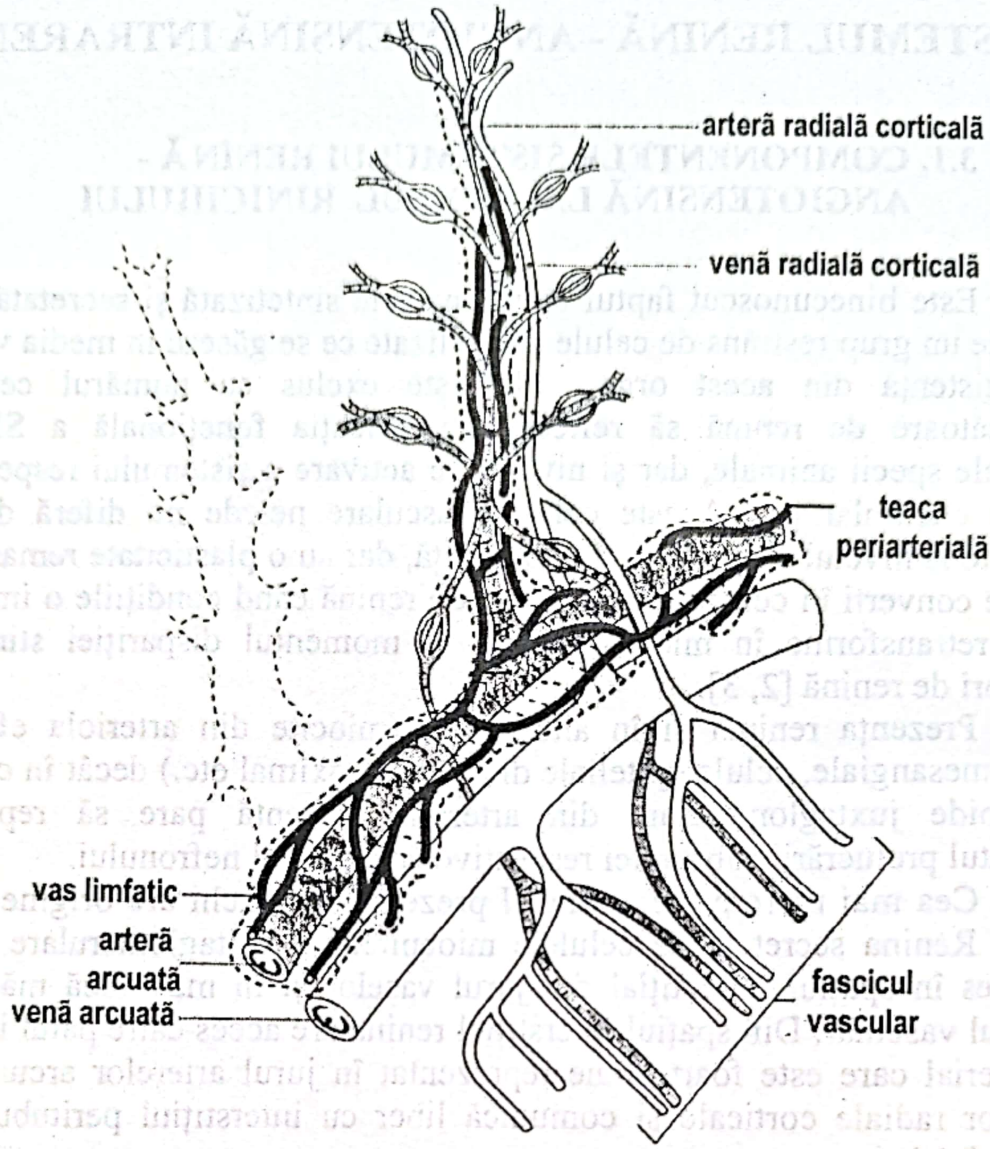


Figura 3.1. Relaţiile spaţiului limfatic periarterial cu circulaţia arterială şi venoasă din zona corticală a rinichiului [4].

Cele mai importante structuri ţintă pentru SRA intrarenal sunt arterele şi arteriolele nu numai aferente şi eferente, ci şi artere cu lumen mai mare care sunt implicate în reglarea fluxului sanguin renal [10].

Structura nefronului se prezintă cu o extremă diversitate şi complexitate nu numai în rinichiul mamiferelor, organizarea arhitecturală fiind foarte variată de la o specie la alta în funcţie de condiţiile de mediu, dar perfect adaptată posibilităţilor de hrănire. În aceste circumstanţe apare necesitatea de evaluare funcţională individuală a nefronilor în studiul fiziologiei renale [11]. Aceste percepte sunt cu atât mai necesar a fi urmărite în condiţiile evaluării implicaţiilor SRA în economia funcţională a rinichiului.

Scanned with OKEN Scanner

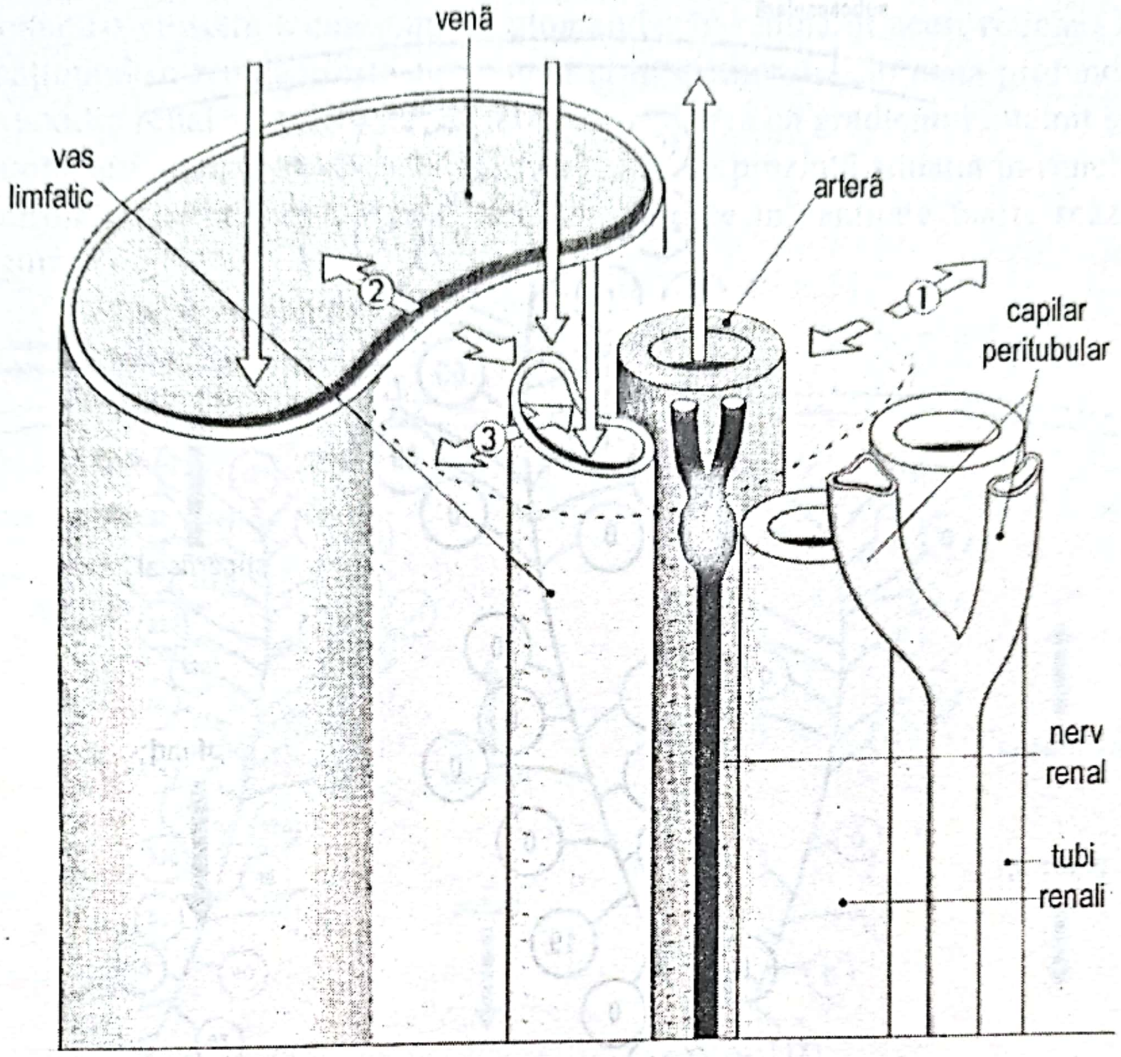


Figura 3.2. Căi posibile (1-3) de distribuție a reninei la nivelul parenchimului renal [4].

Deşi studiul fiziologiei unui singur nefron ridică fără îndoială numeroase dificultăți, evaluarea conținutului în renină şi a celorlalte componente ale SRA prezintă o importanță deosebită nu numai în condiții fiziologice ci mai ales în anumite circumstanțe patologice.

Aşa cum s-a observat cea mai mare cantitate de renină se găseşte la nivelul polului vascular al glomerulilor, distribuția sa în parenchimul renal fiind însă corelată cu statusul histologic [12]. Astfel, la iepure nu s-a detectat renină în zona subcapsulară aglomerulară a cortexului renal în timp ce regiunea imediată care conține glomerulii superficiali este deosebit de bogată în renină. Parcurgând parenchimul renal spre profunzime se constată un gradient semnificativ al reninei; în zonele profunde corticale cantitatea de renină în relație cu numărul de glomeruli este mult mai mică, iar în glomerulii juxtaglomerulari renina este absentă sau în cantitate abia detectabilă [13, 14, 15, 16, 17].

Scanned with OKEN Scanner

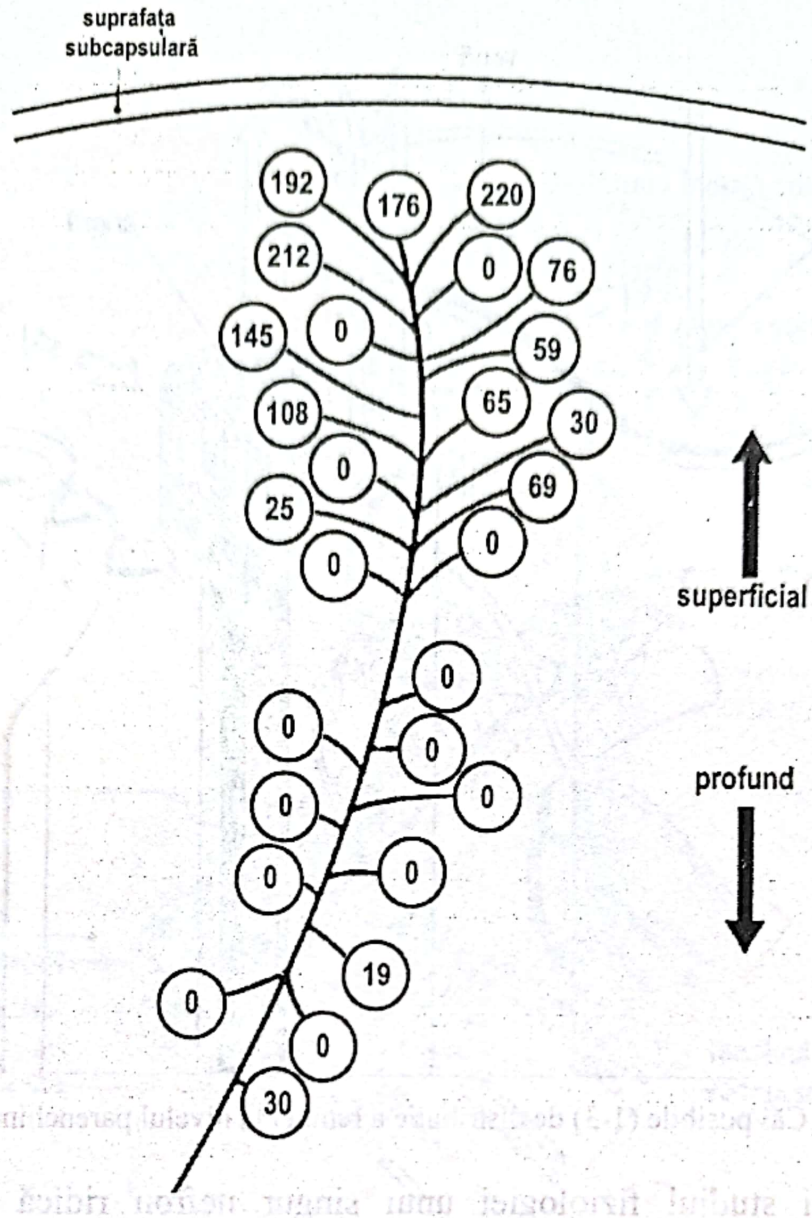


Figura 3.3. Conținutul în renină al glomerulilor rezultați din arteriolele aferente aparținând unei artere interlobulare. Renina este exprimată în unități Glasgow × 10 000 [1].

Studii realizate la șobolan au pus în evidență același gradient transcortical al conținutului în renină, în schimb la nivelul glomerulilor din regiunea profundă a cortexului renal activitatea angiotensinazică este mai crescută decât în zonele superficiale [16, 18, 19, 20, 21, 22].

O distribuție asemănătoare a reninei s-a identificat și în rinichiul de șoarece încă de la vârste mici [16, 23, 24, 25], castor [26], câine [26, 27, 28] și om [13, 29].

Interesante sunt observațiile care au pus în evidență variații ale conținutului în renină din zona corticală a rinichilor în diferite circumstanțe fiziologice și patologice. Astfel, constricția experimentală a unei artere

Scanned with OKEN Scanner

renale la iepure, urmată de o creştere moderată a presiunii arteriale sistemice produce o creştere a conţinutului glomerular în renină în acest rinichi [30]. Conţinutul în renină creşte substanţial şi în glomerulii din zona profundă a cortexului renal al rinichiului astfel ischemiat fără ca gradientul întâlnit şi la animalele indemne să dispară. Cu totul altfel se prezintă situaţia în rinichiul controlateral (indemn) în care renina se găseşte în cantitate foarte scăzută (figura 3.4.)

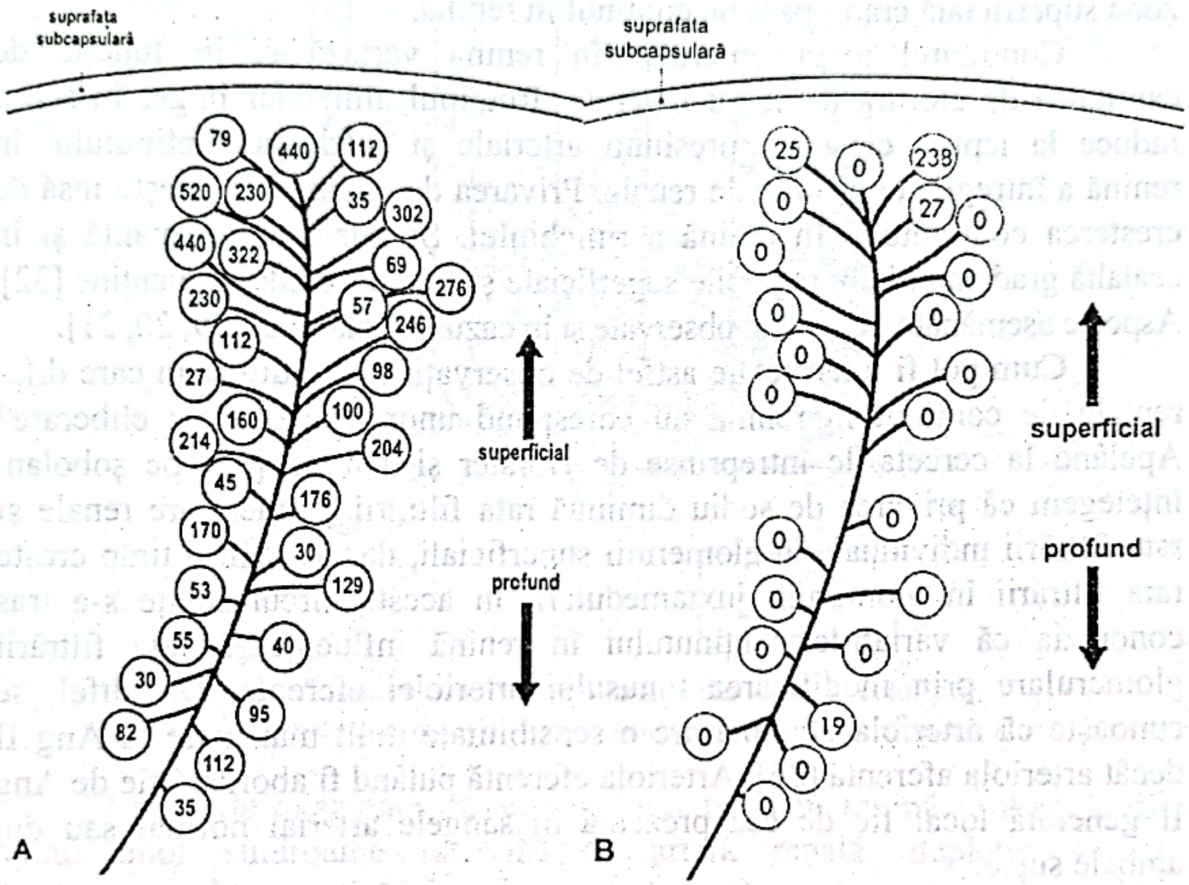


Figura 3.4. Reprezentarea comparativă a conţinutului în renină a glomerulilor aparţinând unei artere interlobulare la iepure în rinichiul ischemiat (A) şi rinichiul controlateral indemn (B) [1].

Acelaşi aspect a fost descris şi la şobolan nu numai pentru imunoreactivitatea la renină, ci şi la angiotensină II [23].

La specia umană, dificultăţile de interpretare au lărgit probabil foarte mult paleta statusului înregistrat. Astfel, Parker a publicat observaţiile pe patru rinichi nonatrofici cu stenoză ipsilaterală a arterei renale şi a observat o creştere de 2 – 3 ori a conţinutului în renină faţă de rinichiul uman normal, în schimb nu a mai găsit gradientul dintre glomerulii superficiali şi cei juxtaglomerulari [29]. Într-adevăr, conţinutul cel mai ridicat în renină s-a instalat în glomerulii superficiali, glomerulii juxtamedulari prezintă, de asemenea, renină în cantitate crescută, iar cei mai săraci în renină sunt

Scanned with OKEN Scanner

glomerulii din zona intermediară a cortexului renal. Celulele care conţin renină în rinichii cu stenoză arterială sunt hiperplaziate şi apar nu numai în zona juxta-glomerulară a arteriolei aferente ci şi în alte artere intrarenale [31]. De fapt, în aceste observaţii s-au găsit rinichi care au conţinutul cel mai ridicat în renină în cortexul superficial, în alţi rinichi renina este prezentă în toată corticala renală, iar în unii rinichi gradientul cortical este inversat în sensul că glomerulii juxtamedulari aveau conţinutul cel mai ridicat în re-nină. Mai mult, în unii din aceşti ultimi rinichi glomerulii din zona superficială erau lipsiţi de conţinut în renină.

Conţinutul juxtaglomerular în renină variază şi în funcţie de cantitatea de clorură de sodiu ingerată. Regimul alimentar bogat în sodiu induce la iepure creşterea presiunii arteriale şi scăderea conţinutului în renină a întregii zone corticale renale. Privarea de sodiu se însoţeşte însă de creşterea conţinutului în renină a rinichiului. Şi într-o circumstanţă şi în cealaltă gradientul între regiunile superficiale şi cele profunde se menţine [32]. Aspecte asemănătoare au fost observate şi în cazul şobolanului [19, 20, 21].

Cum pot fi interpretate astfel de observaţii în condiţiile în care diferenţele de conţinut în renină nu corespund unor diferenţe de eliberare? Apelând la cercetările întreprinse de Horster şi Thurau [35] pe şobolan, înţelegem că privarea de sodiu diminuă rata filtrării glomerulare renale şi rata filtrării individuale în glomerulii superficiali, dar în acelaşi timp creşte rata filtrării în glomerulii juxtamedulari. În aceste circumstanţe s-a tras concluzia că variaţiile conţinutului în renină influenţează rata filtrării glomerulare prin modificarea tonusului arteriolei eferente. De altfel, se cunoaşte că arteriola eferentă are o sensibilitate mult mai mare la Ang II decât arteriola aferentă [36]. Arteriola eferentă putând fi abordată fie de Ang II generată local fie de cea prezentă în sângele arterial normal sau din ambele surse.

Creşterea concomitentă atât a reninei, cât şi a Ang II la nivelul glomerulilor superficiali ale căror arteriole aferente sunt mai lungi şi mai subţiri poate, alături de o presiune de perfuzie a rinichiului mai coborâtă, să limiteze fluxul sanguin în glomerulii superficiali dirijându-l spre glomerulii profunzi care sunt mai mari şi spre ansele vaselor drepte.

O altă posibilitate prin care creşterea conţinutului în renină a glomerulilor profunzi ar putea să susţină funcţia rinichiului în condiţiile modificărilor hemodinamice renale ar fi prin modificarea tonusului vaselor drepte bogate în receptori angiotensinergici [37, 38]. Scăzând fluxul sanguin în ansele vaselor drepte facilitează schimburile în contracurent, în special pentru uree, între ramul descendent arterial şi ascendent venos al ansei şi ramul ascendent venos şi ramul subţire descendent al ansei Henle (figura 3.5.).

Scanned with OKEN Scanner

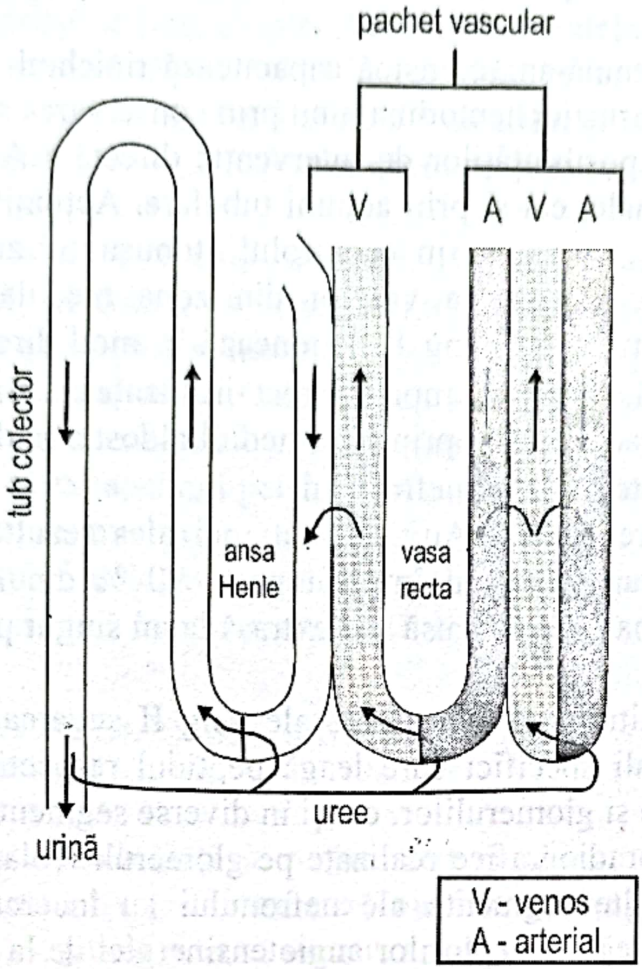


Figura 3.5. Reciclarea ureei reabsorbite din tubul colector prin schimburi în contracurent la nivelul zonei medulare a rinichiului [1].

Creşterile exagerate ale conţinutului renal în renină şi Ang II din cursul unor sindroame (stenoză de arteră renală, depleţie sodată, hipotensiune hemoragică, insuficienţă cardiacă etc.) produc, de obicei, progresia lor spre insuficienţă renală cu hiponatremie. Aceste situaţii beneficiază de tratamentul cu antagonişti ai SRA (inhibitori ai enzimei de conversie, antagonişti ai receptorilor specifici etc.) în ansamblul mijloacelor terapeutice judicios instituite. Dimpotrivă, dacă astfel de substanţe sunt utilizate în condiţiile creşterilor moderate şi compensatorii funcţional pot să producă serioase probleme.

Anumite stări patologice distorsionează distribuţia intrarenală a reninei aşa cum se întâmplă în hipertensiunea arterială esenţială în care se observă nefroni ischemici care secretă cronic mari cantităţi de renină şi un număr mare de nefroni care secretă cantităţi reduse de renină în vederea instalării unei hipernatriureze adaptative [39]. Aceste observaţii confirmă odată în plus faptul că nefronii sunt heterogeni din punct de vedere funcţional.

Scanned with OKEN Scanner

3. 2. RECEPTORI ANGIOTENSINERGICI INTRARENALI

Sistemul renină-angiotensină capacitează rinichiul în tendința sa de menținere a homeostaziei hemodinamicii prin conservarea sodiului şi apei în organism datorită posibilităților de intervenție directă a Ang II atât asupra hemodinamicii renale, cât şi prin acțiuni tubulare. Acțiunile hemodinamice se repercută nu numai prin controlul tonusului arterelor pre- şi postglomerulare, ci şi asupra vaselor din zona medulară a rinichiului. Asupra funcțiilor tubulare, Ang II acționează în mod direct în reabsorbția tubulară proximală a Na^+ şi în mod indirect influențează atât mecanismul de schimburi în contracurent, iar prin intermediul aldosteronului reabsorbția de Na^+ în segmentul terminal al nefronului.

Acțiunile renale ale Ang II sunt mai ales rezultat al intervenției peptidului sintetizat în rinichi întrucât peste 90 % din Ang II adusă de sângele arterial renal este distrusă sau extrasă la un singur pasaj prin organul respectiv [40, 41].

Aceste multiple acțiuni renale ale Ang II sugerează prezența unor receptori intrarenali specifici care leagă peptidul respectiv atât la nivelul vaselor intrarenale şi glomerulilor, cât şi în diverse segmente tubulare.

Studii autoradiografice realizate pe glomeruli izolați, tubi proximali microdisecați şi alte segmente ale nefronului au încercat să stabilească distribuția anatomică a receptorilor angiotensinergici de la mai multe specii de mamifere [42, 43, 44, 45]. Radioliganzii utilizați pentru localizarea autoradiografică *in vitro* a receptorilor angiotensinergici intrarenali au fost fie agonistul analog ^{125}I–[Sar^1] Ang II, fie antagonistul analog ^{125}I [Sar^1, Ile^8] Ang II [44, 46].

Primele date publicate în legătură cu localizarea glomerulară a receptorilor angiotensinergici la şobolan aparțin grupului condus de Sraer care au observat şi o reducere a diametrului glomerulilor incubați cu Ang II în concentrație fiziologică (10^{-10} M) [47]. Repartiția glomerulară a receptorilor angiotensinergici a fost confirmată şi la alte specii, cum ar fi câinele [48], maimuța [46] şi omul [43, 49]. Există un gradient al densității acestor receptori în zona corticală a rinichiului; glomerulii superficiali conțin un număr mare, iar cei juxtaglomerulari cea mai redusă densitate de situsuri cu afinitate pentru Ang II [42]. Receptorii angiotensinergici se găsesc mai ales în membrana celulelor mesangiale şi în membrana bazală a epiteliului glomerular [42, 50, 51, 52]. Studii autoradiografice, *in vivo*, cu Ang II tritiată au confirmat observațiile anterioare [51, 53, 54] şi au legat această distribuție de efectul contractil al peptidului asupra celulelor mesangiale [50, 55].

Scanned with OKEN Scanner

La nivelul tubului proximal de şobolan prezenţa receptorilor la nivelul membranelor apicale şi laterobazale ale celulelor epiteliale [59, 60, 61] a fost interpretată ca intervenind în controlul reabsorbţiei proximale de Na^+ şi apă [56, 57, 58]. Densitatea mare a situsurilor care leagă specific Ang II la nivelul tubului proximal a fost confirmată şi la iepure, maimuţă, câine şi om [42, 43, 48].

Zona medulară renală conţine receptori angiotensinergici cu densitate ridicată sub formă de benzi longitudinale corespunzătoare vaselor drepte din regiunea internă a medularei externe [42, 62] şi cu densitate mai redusă în partea intertubulară a acestei regiuni. Receptori angiotensinergici s-au evidenţiat şi în media unor vase sanguine cu diametrul mai mare şi în stratul muscular al expansiunii pelvice a ureterului [43, 46].

Utilizându-se microradioreceptoare s-a observat că în ansele Henle, tubii distali şi tubii colectori situsurile care leagă specific Ang II au o densitate mult mai mică în comparaţie cu tubii proximali [59].

3.2.1. REGLAREA RECEPTORILOR INTRARENALI PENTRU ANGIOTENSINĂ

Numeroase posibilităţi de reglare atât omoloagă, cât şi heterologă a receptorilor angiotensinergici intrarenali au fost evidenţiate atât în condiţii fiziologice, cât şi patologice. Cationii divalenţi de Ca^{2+} şi Mg^{2+} cresc concentraţiile receptorilor angiotensinergici în glomerulii renali în timp ce ionul de sodiu creşte afinitatea acestora pentru Ang II [53, 63, 64]. Reducerea receptorilor glomerulari pentru Ang II la şobolani cu depleţie sodată, reprodusă prin perfuzia rinichiului cu Ang II şi blocată de captopril sugerează că Ang II realizează fenomenul de "downregulation" al receptorilor renali similar cu cel observat în vasele sanguine [65]. Aceste observaţii au precizat că numărul receptorilor angiotensinergici la nivelul glomerulilor renali este reglat prin mecanism de feedback de către SRA intrarenal.

Concentraţia receptorilor angiotensinergici în glomerulii renali poate fi influenţată prin mecanisme heterologe de către alţi hormoni independent de activitatea SRA. Astfel, hormonii estrogeni şi corticosuprarenalieni reduc numărul receptorilor angiotensinergici glomerulari, în timp ce prolactina şi insulina cresc numărul acestora [66, 67]. Bolnavi cu diabet zaharat fără nefropatie sau în diabetul indus de streptozotocină numărul receptorilor angiotensinergici glomerulari este mai redus, dar revine la densitatea normală prin tratament cu insulină [68, 69]. De asemenea, numărul de receptori angiotensinergici este crescut în glomerulii şobolanilor tineri cu hipertensiune arterială spontană, la şobolanii trataţi cu DOCA şi la cei cu denervare renală [70, 71, 72, 73].

Scanned with OKEN Scanner

Depleţia sodată induce fenomenul de „upregulation" şi al receptorilor angiotensinergici din tubii proximali, în timp ce un regim alimentar cu sodiu în cantitate scăzută sau după administrare de corticosteroizi se observă o reducere a numărului acestora [64, 74]. Creşterea gradientului electric transmembrană în perie a celulelor tubulare proximale induce, de asemenea, o creştere a numărului receptorilor angiotensinergici în tubii proximali în timp ce ditiotreitolul şi guanin–nucleotizii induc fenomenul de „down-regulation" [75, 76, 77].

Încercările de analiză a interrelaţiilor între distribuţia intrarenală a receptorilor angiotensinergici cu a altor principii biologic active (endotelinele, peptidele natriuretice etc.) care concură la aceleaşi funcţii ale nefronului au scos în relief profunde semnificaţii fiziologice.

Distribuţia intrarenală a receptorilor endotelinici este foarte asemănătoare cu a receptorilor angiotensinergici ca de altfel şi pentru factorul natriuretic atrial (ANF). Aceşti receptori se găsesc cu densitate crescută în glomeruli şi în cantitate mai mică în zona medulară. La nivelul tubilor contorţi proximali situsurile endotelin – sensibile se distribuie cu o densitate moderată, în timp ce la nivelul medularei renale ele se găsesc cu densitatea cea mai mare şi tot în benzi longitudinale în partea internă a medularei externe [78].

În cazul receptorilor pentru ANF singura diferenţă de remarcat apare în cazul zonei medulare interne unde lipsesc receptorii angiotensinergici în timp ce situsurile pentru ANF au densitate moderată spre ridicată [45, 79]. La nivel glomerular receptorii pentru ANF se găsesc în epiteliul foiţei viscerale a capsulei Bowman şi în celulele mesangiale intraglomerulare [80].

Această distribuţie concurenţială a receptorilor pentru cele trei principii biologice în glomeruli, tubii contorţi proximali şi vasele drepte din jumătatea internă a zonei medulare externe asigură strategia funcţională renală privind hemodinamica sa şi a excreţiei de Na^+ şi apă (figura 3.6.).

3.3. MECANISMUL INTRACELULAR DE TRADUCERE A INTERACŢIUNII ANGIOTENSINEI II CU RECEPTORII SĂI SPECIFICI LA NIVELUL RINICHIULUI

Studiile care au urmărit dinamica interacţiunii radioligand– receptor, specificitatea antagoniştilor săi analogi, reglarea receptorilor şi a mecanismului de traducere a interacţiunii Ang II – receptori specifici au scos în evidenţă că şi la nivelul rinichiului există două tipuri de receptori [63, 82].

Scanned with OKEN Scanner

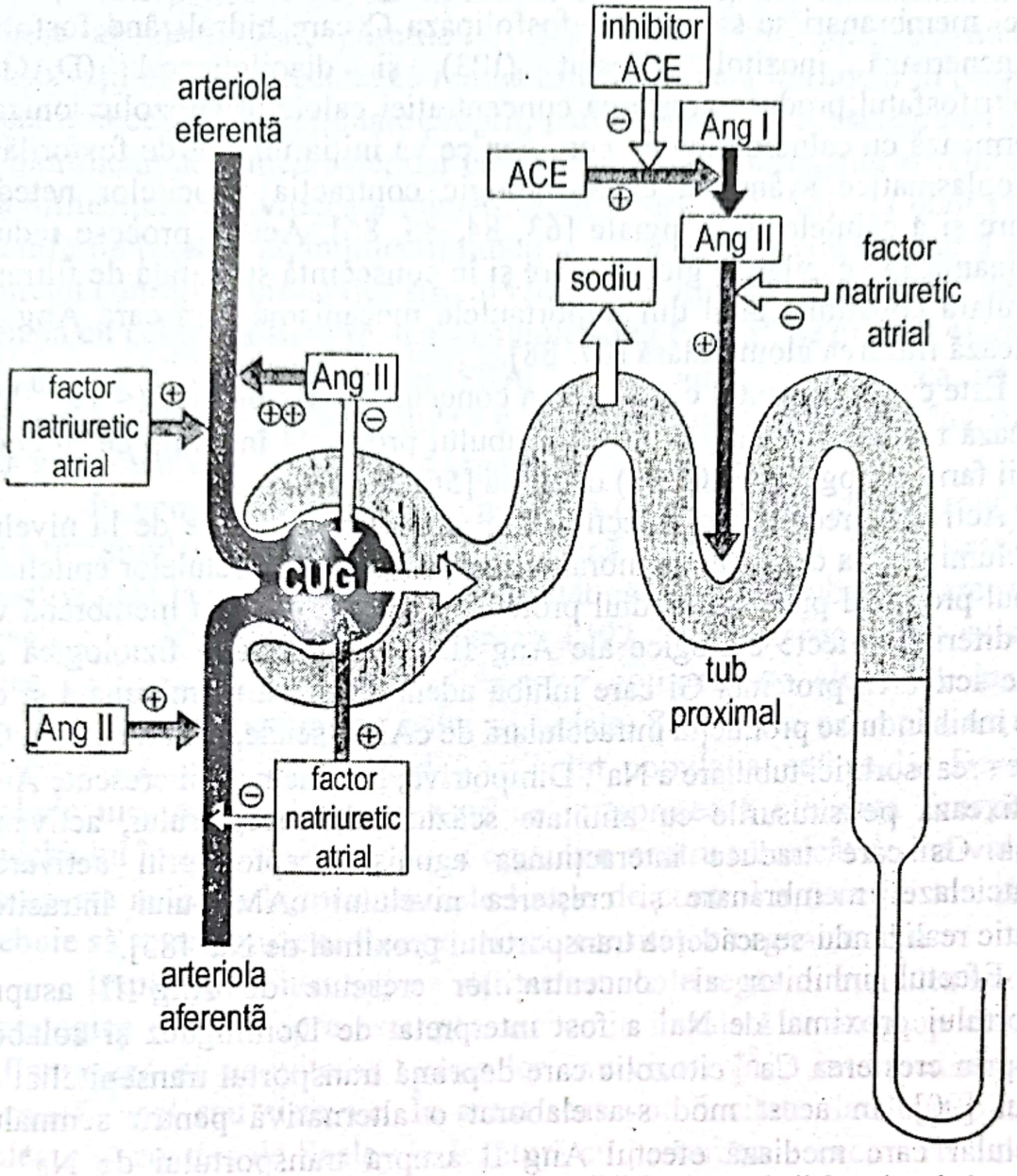


Figura 3.6. Reprezentarea schematică a posibilelor interrelaţii funcţionale între angiotensina II şi factorul natriuretic atrial în controlul hemodinamicii renale şi transportului ionului de sodiu în tubul contort proximal [80]
(+) - vasoconstricţie, creştere sau stimulare.
(-) - vasodilataţie, scădere sau inhibiţie.
CUG – coeficient de ultrafiltrare glomerulară.

Receptorii din celulele mesangiale glomerulare au mare afinitate atât pentru Ang II, ,cât şi pentru Ang III, ei prezintă fenomenul de „down-regulation" la Ang II şi activează fosfolipaza C membranară. Receptorii de la nivelul celulelor epiteliale ale tubului proximal au afinitate mai redusă pentru Ang II şi Ang III, prezintă fenomenul de „upregulation" în prezenţa Ang II şi traduc activarea lor de către angiotensine prin inhibarea adenilatciclazei. Utilizându-se un antagonist non – peptidic (EX89) s-a ajuns la concluzia că subtipul de receptori AT-1 predomină în rinichi [81, 83].

Scanned with OKEN Scanner

La nivelul glomerulilor renali din interacţiunea Ang II cu receptorii specifici membranari se stimulează fosfolipaza C care hidrolizând fosfolipide generează inozitol trifosfat (IP3) şi diacilglicerol (DAG). Inozitoltrifosfatul produce creşterea concentraţiei calciului citozolic ionizat care formează cu calmodulina un complex ce va iniţia un lanţ de fosforilări intracitoplasmatice având ca efect biologic contracţia miocitelor netede vasculare şi a celulelor mesangiale [63, 84, 85, 86]. Aceste procese reduc hemodinamica în capilarele glomerulare şi în consecinţă suprafaţa de filtrare glomerulară constituie unul din importantele mecanisme prin care Ang II controlează filtrarea glomerulară [87, 88].

Este cunoscut faptul că Ang II în concentraţie fiziologică ($< 10^{-10}$ M) stimulează reabsorbţia Na^+ la nivelul tubului proximal în timp ce în concentraţii farmacologice ($> 10^{-9}$ M) o inhibă [56, 58, 89].

Activarea receptorilor specifici din membrana în perie de la nivelul polului luminal şi a celor din membranele latero-bazale ale celulelor epiteliale din tubul proximal prin intermediul proteinei G reglatoare din membrană va media diferitele efecte biologice ale Ang II. În concentraţie fiziologică se produce activarea proteinei Gi care inhibă adenilatciclaza membranară şi ca urmare inhibându-se producţia intracelulară de cAMP scade, având ca rezultat creşterea reabsorbţiei tubulare a Na^+. Dimpotrivă, la concentraţii crescute Ang II se fixează pe situsurile cu afinitate scăzută ale receptorului, activând proteina Gs care traduce interacţiunea agonist–receptor prin activarea adenilatciclazei membranare şi creşterea nivelului cAMP–ului intracitoplasmatic realizându-se scăderea transportului proximal de Na^+ [85].

Efectul inhibitor al concentraţiilor crescute de Ang II asupra transportului proximal de Na^+ a fost interpretat de Dominguez şi colaboratorii prin creşterea Ca^{2+} citozolic care deprimă transportul transepitelial al sodiului [90]. În acest mod s-a elaborat o alternativă pentru semnalul intracelular care mediază efectul Ang II asupra transportului de Na^+ la nivelul tubului proximal. Acţionându-se asupra canalelor de calciu, nivelul citozolic al acestui ion poate să crească inhibându-se reabsorbţia proximală a sodiului sau să scadă, cu repercursiuni opuse [91].

3.4. IMPLICAREA SRA INTRARENAL ÎN ECONOMIA FUNCŢIONALĂ A RINICHIULUI

Nu întâmplător renina s-a diferenţiat în primul rând la nivelul rinichiului şi a fost pusă în evidenţă pentru prima dată în extractele apoase şi alcoolice de rinichi. Această glicoproteină, care iniţiază un lanţ de reacţii enzimatice, generează angiotensine ce acţionează în mod particular la nivelul rinichiului.

Scanned with OKEN Scanner

Interpretat inițial ca un sistem ce se comportă ca hormon în sensul clasic al cuvântului, părerile au fost ulterior revizuite de numeroase observații care au precizat că renina este sintetizată în rinichi în primul rând pentru necesități funcționale proprii, participând la procesele de autoreglare a hidrohemodinamicii sale, dar că odată ajunsă în circulația sistemică poate să influențeze activitatea a numeroase țesuturi. Evidențierea unor izorenine în diferite țesuturi cu implicații funcționale în organele de origine, a extins și întregit conceptul clasic de "sistem renină - angiotensină circulant" de origine renală cu cel de "sistem renină - angiotensină tisular" de origine extrarenală.

La nivelul rinichiului SRA se comportă mai ales ca un sistem paracrin fără a se exclude comportamentul autocrin în diferitele compartimente funcționale ale organului.

În general, rinichiul este privit ca organ alcătuit din nefroni care au funcții similare, deși în realitate dacă am lua în considerație doar reactivitatea la angiotensină s-a constatat că regiunile subcapsulare sunt mai reactive decât cele din corticala internă [92, 93]. Heterogenitate există și în ceea ce privește localizarea diferitelor componente ale SRA în diferiți nefroni ca și în menținerea balanței sodate. SRA, spre exemplu, acționează preferențial doar asupra unei fracții din populația nefronală. Desigur nu trebuie nici exagerat atunci când se interpretează eficiența funcțională a rinichiului în economia întregului organism pentru că oricât de individual s-ar comporta nefronii la mecanismele locale de control a funcției lor, rinichiul trebuie să se armonizeze funcțional cu necesitățile organismului.

Implicațiile heterogeneității nefronale le regăsim mai ales în condiții fiziologice în care, spre exemplu, ischemia instalată la un grup de nefroni influențează și activitatea nefronilor învecinați prin intermediul Ang II formată local sau sistemic. În acest sens pot fi citate datele publicate de colectivul condus de Sealey în legătură cu perturbările excretorii din cursul hipertensiunii arteriale esențiale [94].

Pentru o înțelegere mai convingătoare a implicațiilor SRA în fiziologia rinichiului vom urmări mai întâi acțiunile hemodinamice renale ale angiotensinelor, apoi a celor tubulare, pentru ca în final să urmărim complexitatea interacțiunii acestui sistem ca urmare a multiplelor sale interrelații cu diversele principii biologic active din acest organ.

3.4.1. ACȚIUNILE HEMODINAMICE RENALE ALE ANGIOTENSINELOR

Prin efectele sale vasoconstrictoare selective, SRA are în condiții fiziologice, un rol important în redistribuirea fluxului sanguin în rinichi, în controlul filtrării glomerulare și a eliminării diverșilor produși de excreție.

Scanned with OKEN Scanner

Perfuzia rinichiului cu Ang II în concentrație redusă, așa cum se întâmplă în foarte multe circumstanțe fiziologice, realizează vasoconstricție renală, în special în zona medulară a organului [95, 96]. Dimpotrivă, blocarea SRA în condițiile privațiunii sodate, stenoză de arteră renală, insuficiență cardiacă, stări hipovolemice în care SRA este activat se însoțește de o reducere marcată a rezistenței vasculare renale [95, 97, 98].

Există studii care sugerează că Ang II acționează pe toate vasele intrarenale (artere preglomerulare, glomerul, arteriole eferente, vasa recta) având drept rezultat reducerea fluxului sanguin renal [95, 96, 97, 98, 99, 100, 101]. Aceste efecte, cu siguranță diferă atât cantitativ cât și calitativ asupra situsurilor cu importanță majoră în realizarea rostului rinichiului de depurare a organismului de produșii toxici și nefolositori [102, 103].

3.4.1.1. ROLUL SRA ÎN CONTROLUL HEMODINAMICII GLOMERULARE

Constricția arteriolei eferente și creșterea presiunii intraglomerulare prin care Ang II declanșează mecanismul de feedback negativ pentru prevenirea scăderii ratei de filtrare glomerulară (GFR) și stabilizarea excreției produșilor de metabolism reprezintă una din observațiile cu cele mai multe semnificații privitoare la implicațiile SRA în realizarea rostului rinichiului în menținerea homeostaziei mediului intern (figura 3.7.).

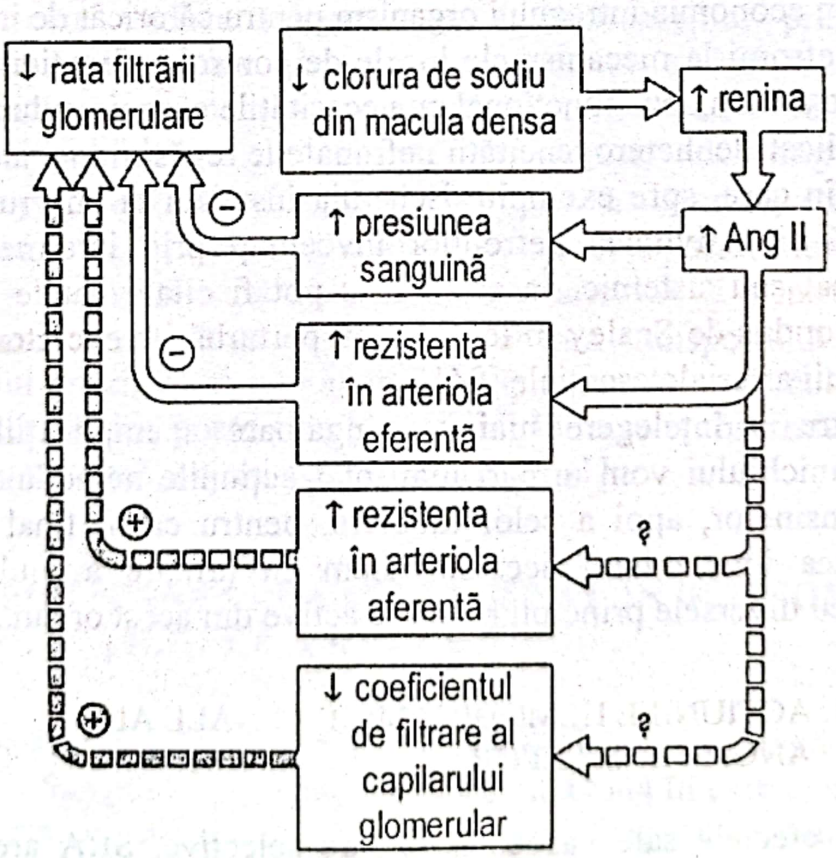


Figura 3.7. Efectele angiotensinei II la nivelul glomerulului renal [103].

Scanned with OKEN Scanner

În anumite circumstanţe au fost descrise şi alte efecte hemodinamice glomerulare ale Ang II; este vorba de vasoconstricţia arteriolei aferente şi reducerea coeficientului de filtrare a capilarelor glomerulare (Kf). Dacă aceste efecte au o intensitate mare s-ar putea iniţia un mecanism de feedback pozitiv (un cerc vicios) în care reducerea filtrării glomerulare (GFR) ar stimula şi mai mult secreţia de renină prin intermediul „maculei densa" cu formare proporţională de Ang II, constricţie consecutivă a arteriolei aferente şi reducerea în continuare a filtrării glomerulare. Acest mecanism de feedback pozitiv nu apare în condiţii fiziologice întrucât aşa cum s-a observat efectele hemodinamice primare ale Ang II par să fie cele realizate mai degrabă pe arteriola eferentă şi în mai mică măsură pe arterele preglomerulare [100, 105, 106, 107].

Controversele apărute în legătură cu acţiunile pre- sau postglomerulare ale Ang II sunt probabil rezultat al tehnicilor diferite utilizate de diverşi cercetători (de la studii pe organism întreg până la arteriole renale izolate) şi a dozelor diferite de Ang II utilizate în aceste studii [108, 109]. De altfel, perfuzia cu Ang II a unor animale indemne este urmată în mod obişnuit de creşterea rezistenţei atât în sectorul preglomerular, cât şi cel postglomerular [110, 111, 112], iar blocarea SRA reduce rezistenţa şi în arteriolele aferente şi a celor eferente [95, 113, 114, 115].

Aceste efecte legate de manipularea SRA au fost interpretate în felul următor:

– cea mai mare parte a fenomenului de creştere a rezistenţei vaselor preglomerulare este secundară modificărilor presiunii de perfuzie renală produse în aceste circumstanţe [111, 116, 117];

– o parte din procesul de vasoconstricţie a vaselor preglomerulare care apare în cursul perfuziei cu Ang II apare ca urmare a declanşării fenomenului de feedback tubulo-glomerular;

– nu se exclude nici acţiunea directă a Ang II asupra musculaturii netede a vaselor preglomerulare. Hall şi Granger au încercat să evalueze eventualul efect direct al Ang II prin prevenirea modificărilor de presiune în vasele de rezistenţă intrarenală şi blocarea mecanismului de feedback tubulo-glomerular [111]. În aceste circumstanţe autorii respectivi nu au mai observat modificări semnificative ale rezistenţei preglomerulare la câine chiar la doze de 40 ng Ang II/kg/min., în timp ce rezistenţa vaselor postglomerulare a crescut foarte mult. S-a tras astfel concluzia că rezistenţa vaselor preglomerulare creşte doar în condiţiile în care nivelul deosebit de ridicat al Ang II declanşează mecanisme de autoreglare.

Comportamentul diferit al circulaţiei preglomeulare în condiţii fiziologice faţă de de cele patologice este rezultatul interrelaţiilor de acţiune a diverselor principii biologice cu SRA.

Scanned with OKEN Scanner

În condiții fiziologice vasele preglomerulare par să fie protejate de efectul vasoconstrictor direct de anumite substanțe care se formează în rinichi. Stimularea sintezei de prostaglandine protejează selectiv vasele preglomerulare de acțiunea vasoconstrictoare a Ang II. Astfel, după administrarea de meclofenamat (inhibitor al prostaglandin sintetazei), Ang II realizează arterioloconstricție preglomerulară chiar și în condițiile blocării mecanismului de feedback tubuloglomerular sau a servocontrolului presiunii de perfuzie a rinichiului [118, 119]. Meclofenamatul nu influențează însă modificările de tonus Ang II-induse la nivelul arteriolelor eferente. Acțiunea directă a Ang II asupra vaselor preglomerulare în condițiile blocării sintezei de prostaglandine au fost confirmate și prin studii de clearance renal și cu tehnica microperfuziilor nefronale [120, 121].

Oxidul nitric pare să reprezinte un alt factor care ar proteja vasele preglomerulare de acțiunea Ang II întrucât inhibarea nitric oxid sintetazei cu N–nitro–L–arginină este urmată de o vasoconstricție susținută în sectorul respectiv ca urmare a administrării Ang II.

Deci, Ang II nu produce constricția arteriolelor aferente cât timp sinteza prostaglandinelor și NO este posibilă, în schimb efectul peptidului este intens manifest în condițiile unui nivel intrarenal ridicat al adenozinei [122]. Efectul adenozinei este multiplicativ. Adenozina se sintetizează în cantitate sporită în condiții patologice (stenoză de arteră renală, leziuni ale arterelor renale din cursul hipertensiunii arteriale maligne) datorită ischemiei renale. În aceste circumstanțe producția intrarenală de Ang II este de asemenea sporită, așa încât vasoconstricția inițiată reprezintă punctul de plecare a instituirii mecanismului de feedback pozitiv care va produce scăderea fluxului sanguin renal accentuând starea de hipoxie ce va produce o nouă creștere a sintezei de Ang II și adenozină și așa mai departe.

Interacțiunea multiplicativă între adenozină și Ang II pornește de la observația că în rinichiul normal nivele foarte ridicate de Ang II, comparabile cu cele întâlnite în insuficiența renală acută, nu realizează scăderi semnificative ale ratei de filtrare flomerulară [123]. Ori, blocarea sintezei Ang II în aceste circumstanțe este urmată de creșterea fluxului sanguin renal și a ratei filtrării glomerulare, ceea ce îndrumă spre concluzia că efectul vasoconstrictor al peptidului nu se instalează decât în condițiile în care acesta interacționează cu alte principii biologic active cum ar fi adenozina în cazul sus menționat.

Pe preparate de nefroni juxtamedulari din zone ischemiate și/sau cu leziuni tisulare, Ang II produce, de asemenea, o creștere marcată a rezistenței arteriolelor aferente [124, 125].

În afara teritoriului pre și postglomerular, Ang II are acțiuni fiziologice importante și la nivelul glomerulului renal. Este cunoscut faptul că celulele mesangiale glomerulare conțin actină capabilă să se contracte în

Scanned with OKEN Scanner

prezența a numeroşi agonişti [126, 127]. La acest nivel s-au pus în evidență receptori angiotensinergici [128, 129, 130]. Aprecierea coeficientului de filtrare din capilare glomerulare (Kf) după un model matematic cuplat cu măsurători prin micropuncție au pus în evidență că Ang II reduce volumul capilarelor glomerulare şi a suprafeței de filtrare glomerulară [110, 120, 131]. De asemenea, Ang II determină contracția glomerulilor izolați şi celulele mesangiale în cultură [132, 133, 134]. Reducerea coeficientului de filtrare din capilarele glomerulare urmărită prin studii de micropuncție apare şi datorită creşterii Ang II apărută ca urmare a depleției sodate cronice [135].

3.4.1.2. ROLUL ANGIOTENSINEI II ÎN REGLAREA FILTRĂRII GLOMERULARE

Angiotensina II, prin multiplele sale efecte asupra hemodinamicii pre-, post- şi glomerulare, influențează şi rata filtrării glomerulare (GFR). Astfel, prin constricția arteriolei aferente şi constricția glomerulului, Ang II are tendința să reducă GFR, în timp ce prin alte acțiuni cum ar fi şi constricția arteriolelor eferente previne scăderea filtrării glomerulare.

Cele mai multe date reprezintă suport pentru înțelegerea faptului că în condiții fiziologice SRA acționează în sensul prevenirii reducerii ratei de filtrare glomerulară [102, 103, 136, 137, 138]. De altfel, în condițiile în care activitatea SRA nu este modificată atât fluxul sanguin renal, cât şi rata filtrării glomerulare sunt autoreglate. Prin blocarea efectelor Ang II sau în cursul depleției sodate procesul de autoreglare a ratei filtrării glomerulare nu se mai desfăşoară optim. Astfel, se sugerează că în procesul de autoreglare a GFR sunt implicate cel puțin două sisteme de control care acționează paralel (figura nr. 3.8.). Unul poate să opereze în absența Ang II producând vasodilatație arteriolară aferentă şi eferentă în condițiile reducerii presiunii sanguine în artera renală. Acest proces se realizează atât prin mecanism miogen cât, şi prin feedback tubuloglomerular [106, 118, 139, 140]. O a doua posibilitate de control se realizează în prezența Ang II care împiedică reducerea rezistenței arteriolelor eferente şi în acest mod stabilizează presiunea hidrostatică intraglomerulară şi GFR când presiunea sanguină renală se reduce. Se pare că SRA are ponderea cea mai mare în condițiile reducerii foarte profunde (la limita procesului de autoreglare) a presiunii de perfuzie a rinichiului.

Ang II, prin efectul său vasoconstrictor asupra arteriolelor eferente, previne scăderea ratei de filtrare glomerulară şi în alte condiții fiziologice şi patologice cum ar fi privațiunea de sodiu, stenoză de arteră renală, creşterea presiunii venoase renale, stimulare adrenosimpatică, insuficiență cardiacă congestivă, sindrom Bartter etc. [118, 141, 142, 143].

Întrucât s-a postulat că Ang II formată în rinichi are efecte preglomerulare mai puternice decât Ang II circulantă s-a ivit întrebarea care

Scanned with OKEN Scanner

din cele două surse de peptid contribuie la controlul ratei de filtrare glomerulară [100, 109]. În urma cercetărilor întreprinse s-a observat că în condițiile în care SRA are o activitate intactă atât în fluxul sanguin renal, cât și GFR sunt autoreglate efectiv la scăderi de până la 80 mm Hg a presiunii de perfuzie renală. Dacă se inhibă enzima de conversie a Ang I în Ang II autoreglarea GFR nu se mai realizează, în schimb fluxul sanguin renal se menține în proporție de 32 % față de control în aceleași condiții experimentale. Scăderea ratei de filtrare glomerulară în condițiile sus menționate este rezultatul mai ales al scăderii rezistenței arteriolelor eferente probându-se constatările anterioare care scot în relief participarea Ang II la menținerea tonusului în arteriola eferentă și susținerea filtrării glomerulare în condițiile în care presiunea de perfuzie renală scade.

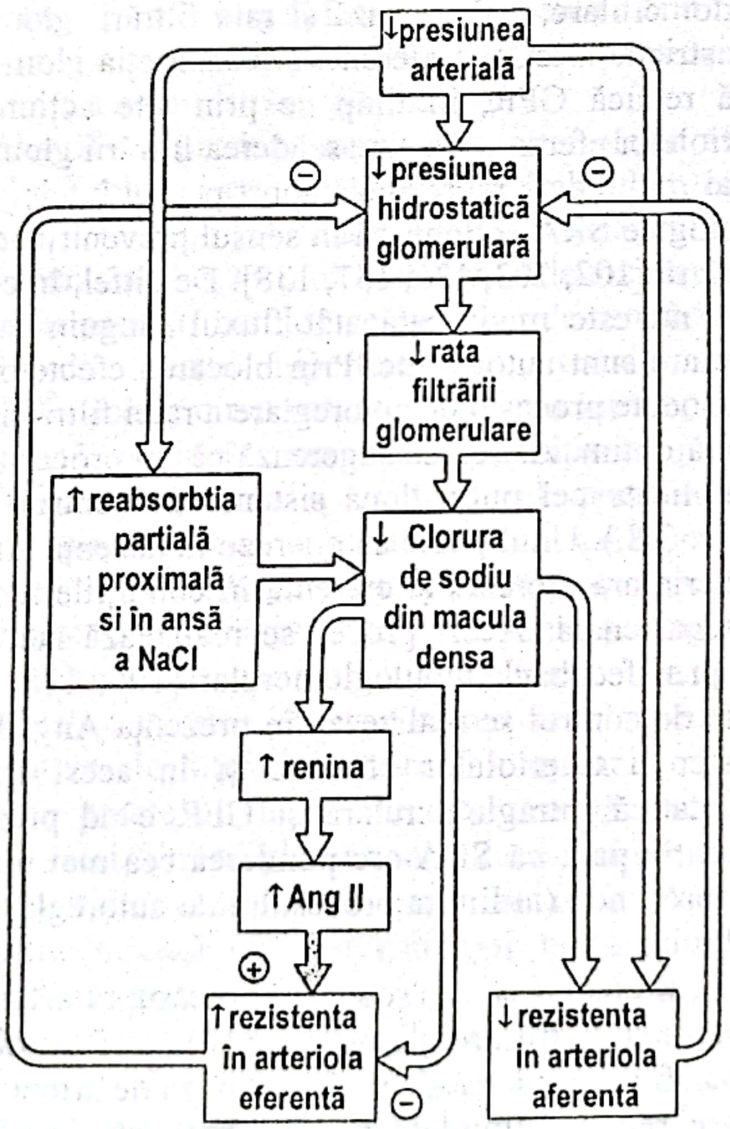


Figura 3.8. Interacțiunile dintre Ang II și macula densa în controlul ratei de filtrare glomerulară din timpul scăderii presiunii arteriale [103].

Scanned with OKEN Scanner

Pentru a se răspunde la întrebarea dacă Ang II circulantă participă la fenomenul de control a GFR s-a administrat în perfuzie Ang II la animalele tratate cu inhibitori ai EC şi s-a observat că atât fluxul sanguin renal şi rata filtrării glomerulare cât şi fracţia filtrată şi tonusul arteriolelor eferente se restabilesc [104]. Adăugând la aceste observaţii şi constatarea că prin stimularea formării de Ang II ca urmare a adăugării de substrat reninic în sângele de perfuzie a rinichiului izolat se produce mai ales constricţia arteriolelor eferente se poate trage concluzia că la menţinerea GFR din timpul scăderii presiunii de perfuzie renală nu există discriminare privind locul de acţiune a Ang II intrarenală faţă de Ang II sistemică.

3.4.1.3. EFECTELE HEMODINAMICE ALE SRA ASUPRA CIRCULAŢIEI DIN VASELE DREPTE ŞI DIN CAPILARELE PERITUBULARE

Hemodinamica din zona medulară a rinichiului este cea mai susceptibilă la ajustări sub acţiunea variaţiilor de activitate ale sistemului renină - angiotensină. Vasele din această regiune (vasa recta) sunt cele mai sensibile la acţiunea vasoconstrictoare a Ang II din toată circulaţia rinichiului [96, 145, 146]. Datorită densităţii crescute a receptorilor angiotensinergici din acest sector, Ang II în concentraţii fiziologice produce scăderea fluxului sanguin medular [116, 146]. Perfuzia cu o rată foarte scăzută de Ang II, în aşa fel încât nici fluxul sanguin renal şi nici rata filtrării glomerulare să nu se modifice, determină scăderea fluxului sanguin în zona papilară a rinichiului [96]. În schimb, administrarea de inhibitori ai enzimei de conversie se însoţeşte de creşterea fluxului sanguin medular chiar în condiţiile în care SRA este activat [146, 147].

Hemodinamica medulară controlată astfel de SRA are o semnificaţie deosebită în menţinerea gradientului osmolar cortico–medular implicat în mecanismele de diluţie/concentraţie care se desfăşoară în rinichi [98, 118, 144, 148].

Modificările de tonus ale arteriolelor eferente nu contribuie doar la creşterea presiunii hidrostatice în capilarele glomerulare ci produc şi variaţii ale hemodinamicii în capilarele peritubulare. De fapt, Ang II prin constricţia arteriolelor eferente reduce presiunea hidrostatică în capilarele peritubulare dar creşte presiunea coloidosmotică a sângelui din acest teritoriu. Aceste modificări au tendinţa să scadă presiunea hidrostatică şi să crească presiunea coloidosmotică a lichidului interstiţial generând forţe motrice pentru schimburile transtubulare [149, 150]. În acest fel Ang II contribuie în mod indirect la creşterea reabsorbţiei tubulare [151].

Reducerea presiunii hidrostatice interstiţiale în circumstanţele respective se însoţeşte de scăderea permeabilităţii joncţiunilor strânse în segmentul luminal al celulelor epiteliale ale tubului proximal restrângându-se

Scanned with OKEN Scanner

posibilitățile de revenire intratubulară a sodiului transportat activ în spațiul intercelular şi în acest mod se realizează o creştere a reabsorbției nete din lumenul tubular. Reducerea presiunii hidrostatice în capilarele şi interstițiul peritubular de către Ang II diminuă şi conductanța electrică a celulelor epiteliale şi fluxul transepitelial al polizaharidelor care contribuie, de asemenea, la realizarea reabsorbției nete lumeno – interstițiale [152].

O altă consecință a reducerii presiunii hidrostatice interstițiale şi a creşterii reabsorbției la nivel proximal este reducerea fluxului urinii în segmentele următoare ale tubului urinifer oferindu-se timp suficient prelucrării adecvate a acesteia. În acest mod creşte reabsorbția apei în ramul descendent al anselor Henle şi în tubii colectori se absoarbe NaCl în segmentul subțire ascendent al ansei Henle şi astfel se realizează creşterea osmolarității medulare.

Modificările forțelor fizice din capilarele peritubulare sunt potente doar pentru ajustările procesului de reabsorbție în tubul proximal, în timp reajustarea forțelor fizice interstițiale se răsfrânge asupra reabsorbției în celelalte segmente tubulare cu repercursiuni în modificările de compoziție a lichidului interstițial medular. Se observă deci că Ang II induce o serie de efecte în cascadă prin care reabsorbția tubulară controlată de peptidul respectiv ca urmare a modificărilor hemodinamice din capilarele peritubulare contribuie la realizarea reabsorbției în celelalte segmente ale nefronului în concordanță cu statusul organismului (figura 3.9.).

3.4.2. ACȚIUNILE TUBULARE ALE SISTEMULUI RENINĂ - ANGIOTENSINĂ

Condițiile de viață, dar mai ales cele impuse de diversele activități ale organismului reclamă desfăşurarea independentă a mecanismelor de excreție a apei şi sodiului față de cele ale produşilor rezultați în urma metabolismului celular.

Sistemul renină-angiotensină reprezentând una dintre cele mai complexe posibilități ale organismului de control a balanței hidroelectrolitice prin acțiuni atât renale, cât şi extrarenale, contribuie în acelaşi timp la protecția compoziției normale a mediului intern prevenind şi retenția în exces a produşilor de deşeu metabolic.

Prin efectele sale vasoconstrictoare asupra arteriolei eferente cât, şi prin acțiunile directe asupra celulelor epiteliale tubulare Ang II creşte reabsorbția de sodiu şi apă, iar prin stabilizarea ratei de filtrare glomerulară SRA menține relativ constantă excreția produşilor rezultați în urma metabolismului celular.

Scanned with OKEN Scanner

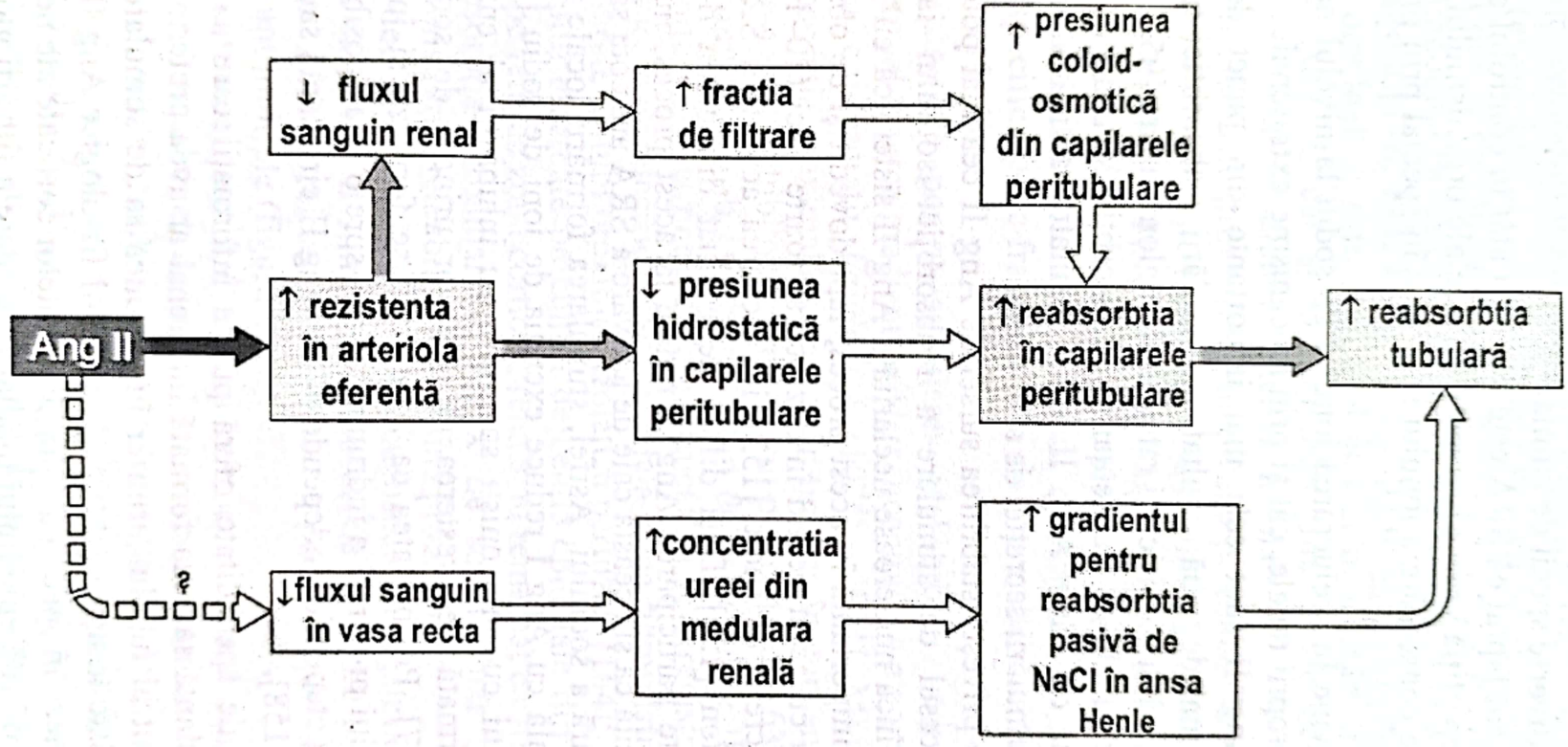


Fig. 3.9. Reprezentare grafică a efectelor posibile ale Ang II asupra filtrării glomerulare şi reabsorbției rubulare [103].

Scanned with OKEN Scanner

Sistemul renină-angiotensină, prin elementele sale biologic active, dar şi prin interrelaţiile pe care le contractă cu diverse alte sisteme din organism reprezintă una din posibilităţile cele mai eficiente în menţinerea balanţei sodate la diverse specii de animale.

Este cunoscut faptul că SRA este implicat atât în controlul apetitului pentru sodiu, în repartiţia sa în diversele sectoare ale organismului, dar mai ales în procesul de conservare a ionului respectiv în special prin procese de reabsorbţie.

SRA intervine în prelucrarea ionului de sodiu la nivelul nefronului atât prin acţiuni proprii renale, cât şi prin mecanisme extrarenale. Acţiunile intrarenale ale Ang II sunt cele mai importante din punct de vedere cantitativ şi sunt mai degrabă rezultat al stimulării reabsorbţiei tubulare a ionului de sodiu decât a modificării ratei filtrării glomerulare [95, 118, 144]. Mecanismele extrarenale de influenţare a reabsorbţiei de ioni de sodiu la nivelul rinichiului de către Ang II sunt rezultatul activării simpatico-adrenergice şi a stimulării secreţiei de aldosteron.

În ceea ce priveşte stabilirea sursei de Ang II cea mai potentă care intervine în procesul de stimulare a reabsorbţiei sodiului la nivelul rinichiului există încă numeroase neclarităţi. Ang II sistemică cu siguranţă deţine o pondere importantă în acest proces, fapt dovedit şi de observaţiile prin care perfuzia cu acest peptid în doze chiar foarte mici (10–15 pg/ml) reduce marcat excreţia de sodiu [153], iar blocarea activităţii SRA creşte excreţia acestui ion [154]. Deşi dificil de evaluat din punct de vedere cantitativ care este participarea Ang II renale la acest proces, numeroase date scot în evidenţă că şi această cale de activare a SRA are cota sa parte în reabsorbţia tubulară a sodiului. Astfel, stimularea formării locale a Ang II fără perfuzie renală cu Ang I reduce excreţia de ioni de sodiu [109], iar blocarea sistemului cu antagonişti specifici sau inhibitori ai enzimei de conversie este urmată de creşterea eliminărilor urinare de sodiu [102, 103,155, 156, 157]. Posibilitatea ca Ang II să se formeze şi în celulele epiteliale ale tubului proximal a îndrumat atenţia spre o nouă posibilitate de acţiune a acestui octapeptid, independentă de Ang II circulantă sau din alte surse intrarenale [158].

Literatura de specialitate oferă puţine informaţii care să tranşeze dacă Ang II circulantă sau cea formată intrarenal ar avea preferinţă pentru un anumit segment al tubului urinifer în acţiunea sa de stimulare a reabsorbţiei de Na^+. Este totuşi posibil ca în condiţii fiziologice Ang II formată în rinichi să acţioneze în special asupra segmentelor corticale ale nefronului, în timp ce Ang II oferită epiteliului tubular ca urmare a filtrării glomerulare sau prin difuziune din capilarele peritubulare să influenţeze reabsorbţia în toate segmentele tubulare.

Scanned with OKEN Scanner

3.4.2.1. ACȚIUNILE INTRARENALE DIRECTE ALE ANG II ASUPRA REABSORBȚIEI TUBULARE DE SODIU

Evidențierea efectului antinatriuretic al Ang II în absența modificărilor semnificative ale ratei filtrării glomerulare și factorilor extrarenali (exemplu aldosteronul), care pot influența celulele tubulare în acest sens a dus la concluzia că unul din importantele rosturi ale Ang II în economia funcțională a rinichiului este de stimulare a reabsorbției tubulare a ionului de sodiu [118, 144, 159]. Intervenția directă la nivelul rinichiului a SRA este complexă și este rezultatul atât al modificărilor hemodinamice generate de Ang II, cât și al acțiunilor directe ale peptidului asupra transportului realizat de celulele epiteliale tubulare.

Studii efectuate prin micropuncție sau pe rinichi în totalitate au pus în evidență că Ang II crește reabsorbția sodiului la nivelul tubului proximal [115, 118, 144, 160, 161]. Astfel, în timp ce perfuzia cu Ang II crește reabsorbția sodiului foarte mult la nivelul tubului proximal și în mică măsură în tubul distal, blocarea formării de Ang II sau administrarea de antagoniști specifici reduc fracția de ioni de sodiu absolută la nivelul tubului proximal [154, 161].

Utilizându-se pentru aprecierea reabsorbției sodiului la nivelul tubului proximal tehnica gradientului de concentrație s-a constatat că:

– în concentrații fiziologice (10^{-13} – 10^{-10} M) Ang II crește reabsorbția proximală de sodiu, în timp ce în concentrații mari (10^{-9} M) are efect inhibitor asupra acestui proces [162, 163].

– stimularea reabsorbției de sodiu de către Ang II s-ar realiza în condiții de electroneutralitate întrucât nu se înregistrează modificări de încărcare electrică transepitelială după administrarea Ang II pe preparate de tubi proximali izolați și perfuzați [164];

– studii efectuate pe culturi de celule epiteliale din tubii proximali sau pe felii de zonă corticală renală au remarcat că Ang II stimulează reabsorbția proximală a ionilor de sodiu chiar și în condițiile administrării prealabile de ouabaină [165, 166].

Iată deci că există încă multe necunoscute în legătură cu mecanismul celular prin care Ang II stimulează reabsorbția de sodiu la nivelul tubului proximal, în schimb reiese clar faptul că posibilitățile de intervenție a peptidului sunt multiple (figura 3.10.).

În porțiunea inițială a tubului contort proximal Ang II stimulează reabsorbția de bicarbonat de sodiu și secreția ionului de hidrogen. Se presupun mai multe posibilități de intervenție a Ang II în stimularea reabsorbției între care au fost reținute scăderea permeabilității intercelulare și reducerea procesului de „backleak" pentru bicarbonat, acidifierea luminală în care este implicat sistemul antiport Na^+ - H^+ și stimularea pompei protonice luminale [167, 168]. Deși Ang II nu crește numărul de transportori pentru ionul de hidrogen modifică afinitatea de substrat a acestora [169, 170].

Scanned with OKEN Scanner

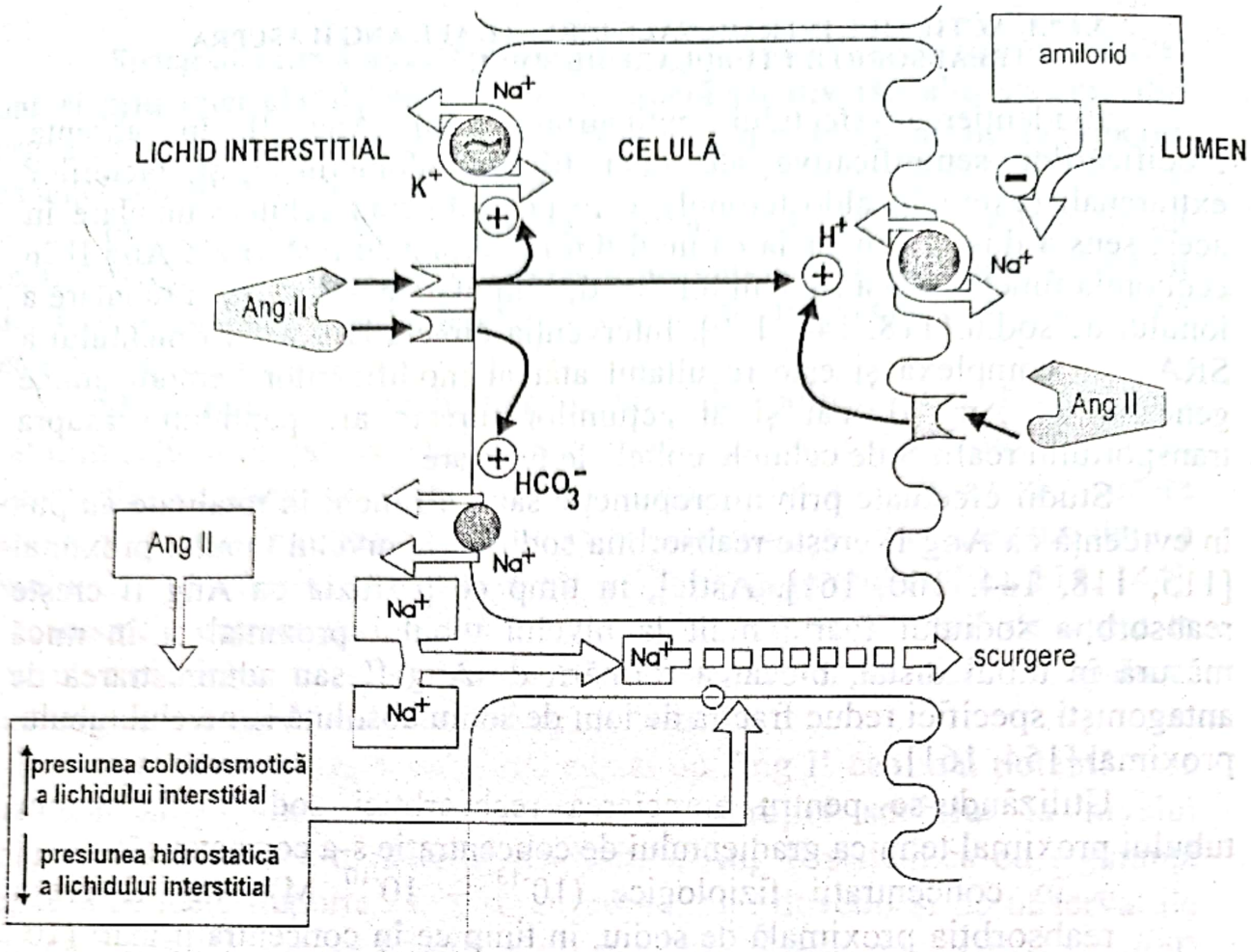


Figura 3.10. Posibilități de intervenție a Ang II în procesul de stimulare a reabsorbției sodiului la nivelul tubului proximal [103].

În afara acțiunilor asupra schimburilor Na^+/H^+ , Ang II poate să acționeze la nivelul membranelor latero – bazale ale celulelor tubului proximal unde afinitatea pentru peptid este mai mare decât la nivelul membranei luminale [171]. La acest nivel Ang II stimulează activitatea ATP-azei Na^+ / K^+ [172].

Studiile care încearcă să stabilească implicațiile Ang II în reabsorbția sodiului în alte segmente tubulare decât cel proximal, întâmpină numeroase dificultăți în interpretare. Atât tehnicile de "stop – flow", cât şi cele de micropuncție și microperfuzie nu au evidențiat modificări ale transportului de sodiu în ansa Henle și segmentele următoare tubulare nici după stimularea, nici după blocarea SRA. Existența situsurilor care leagă specific Ang II în segmentele medulare ale nefronului și a observațiilor că acest peptid stimulează transportul de sodiu prin membrane considerate analoage tubului distal (pielea și vezica urinară de broască, epiteliul intestinului subțire și gros de mamifere) sugerează că efectul de stimulare a transportului de Na^+ nu este specific doar tubului proximal. În acest sens sunt de menționat studiile care au utilizat tehnica clearance-ului litiului care

Scanned with OKEN Scanner

trag concluzia că în concentrație fiziologică Ang II crește „fracția distală" a sodiului reabsorbit [173]. De asemenea, studii efectuate pe voluntari sănătoși au pus în evidență că blocarea formării endogene de Ang II reduce „fracția distală" a sodiului reabsorbit [174].

Întrucât Ang II este unul din principiile biologice cele mai puternice care reduc excreția de sodiu la concentrații foarte reduse nu se poate accepta cu certitudine ca efectele sale să se cantoneze deci într-un singur segment nefronal. De altfel, macula densa, una din porțiunile tubulare care intervine în realizarea compoziției finale a urinei, are un rol important în realizarea mecanismului de feedback tubulo-glomerular. Ang II are implicații deosebite în acest mecanism de reglare a fracției de filtrare. Ori, dacă Ang II nu ar influența transportul de Na^+ la nivel macular, scăderea eliminărilor urinare de sodiu datorată reabsorbției tubulare proximale intensă nu ar mai putea fi atenuată întrucât oferta de NaCl către macula densa nu ar declanșa meca-nismul de feedback de vasodilatație preglomerulară și creștere a ratei filtrării glomerulare [106, 175].

Este greu de apreciat cantitativ importanța acțiunilor directe ale Ang II asupra transportului transtubular de sodiu în comparație cu cele mediate prin variații ale hemodinamicii renale. De aceea se consideră că gradul de contribuție a mecanismelor directe și a celor indirecte variază în diferitele circumstanțe fiziologice și depind de gradul de activare a SRA.

3.4.2.2. IMPLICAȚIILE SRA ÎN DESFĂȘURAREA MECANISMULUI DE FEEDBACK TUBULO-GLOMERULAR

Mecanismul de feedback tubulo-glomerular reprezintă o parte componentă majoră a proceselor de autoreglare renală ce funcționează în scop homeostatic pentru ajustarea fluxului sanguin renal (RBF) și a ratei de filtrare glomerulară. Acesta se materializează prin vasoconstricție preglomerulară cu consecință reducerea presiunii hidrostatice în capilarele glomerulare ca răspuns la creșterea fluxului și a reabsorbției NaCl la nivelul maculei densa (MD). Fenomenul specific pentru fiecare nefron în parte (SNGFR) participă și la menținerea homeostaziei sodice prin controlul excreției sale la nivelul rinichiului. Derularea sa este inițiată de creșterea încărcării cu NaCl a părții inițiale a tubului distal în vederea reducerii SNGFR și respectiv a ratei de încărcare ulterioară cu Na^+.

La realizarea mecanismului de feedback tubulo-glomerular participă deci câteva componente funcționale:

– macula densa care reprezintă porțiunea din tubul distal ce are rapoarte intime cu hilul glomerulului propriu. Celulele diferențiate la acest nivel sunt capabile să sesizeze concentrația clorului luminal prin intermediul sistemului de cotransport Na^+-$2Cl^-$-K^+ prezent la

Scanned with OKEN Scanner

polul luminal al membranei acestor celule. Aceste celule se comportă ca adevărați chemoreceptori și răspund prin depolarizare la creșterea concentrației NaCl din urina care le scaldă;
– mesangiumul extraglomerular reprezentat de celulele Goormghtigh care au posibilități de procesare a semnalului provenit de la celulele maculare;
– miocitele netede din peretele arteriolei aferente ale aceluiași nefron;
– celule producătoare de substanțe vasoactive din peretele arteriolei aferente.

Vasoconstricția realizată prin mecanismul de feedback tubulo-glomerular incumbă creșterea tonusului arteriolei aferente ca răspuns la semnalele declanșate de la nivelul maculei densa. Mediatorul sau mediatorii acestui proces de vasoconstricție preglomerulară declanșat de la nivelul maculei densa nu sunt bine identificați. Deși SRA a fost primul sugerat și apoi bine documentat prin numeroase lucrări [106, 139, 176, 177, 178], alte substanțe vasoconstrictoare identificate în rinichi (adenozina, autacoizi lipidici, cAMP, Ca^{2+}) candidează uneori cu șanse demne de luat în considerație. Astfel, adenozina renală, așa cum s-a discutat anterior, realizează vasoconstricție preglomerulară. Această substanță activează receptorii A1 din miocitele netede vasculare renale, iar blocarea acestora reduce eficacitatea mecanismului de feedback tubulo-glomerular [179, 180].

Welch și Wilcox au aratat că prin efectul lor vasoconstrictor tromboxanii ar modula acest mecanism de feedback tubulo-glomerular [181]. În acest sens pot fi citate și cercetările care au evidențiat o reducere a feedback-ului tubulo-glomerular în urma administrării de inhibitori ai sintezei sau de antagoniști ai tromboxanilor [182] ca și acele observații de stimulare a procesului de către analogi ai tromboxanului [183]. Mai mult, Schnermann și colab., au arătat că și inhibitori ai prostaglandinelor reduc fenomenul de feedback tubulo-glomerular ca de altfel și inhibiția citocromului P450 [184]. Acest din urmă proces este însă restabilit dacă se face o perfuzie locală, simultană cu 20 – HETE.

Intervenția SRA în funcționarea mecanismului de feedback tubulo-glomerular este deosebit de atractivă întrucât celulele producătoare de renină sunt parte integrantă din această unitate funcțională și, de asemenea, pentru că se descriu Ang II efecte vasoconstrictoare la nivelul patului arteriolar aferent [185, 186]. În această concepție creșterea încărcării sau a transportului de NaCl la nivelul celulelor maculei densa ar produce stimularea secreției de renină și consecutiv formarea de Ang II care, prin constricția arteriolei aferente scade rata filtrării glomerulare [178]. Studiile ulterioare realizate atât pe rinichi, cât și pe nefroni au pus în evidență că eliberarea reninei se realizează în sens invers față de presupusa supoziție

Scanned with OKEN Scanner

[187, 188, 189]. Astfel, în condițiile în care între transportul de NaCl la nivelul maculei densa și eliberarea de renină există o relație inversă, iar între transportul de Na^+ de la acest nivel și rezistența arteriolară aferentă o relație directă s-a emis părerea că semnalul sesizat de aceste celule ar fi transportul ionului respectiv și nu încărcarea lor cu NaCl. S-a emis astfel părerea că Ang II ar modifica doar sensibilitatea celulelor maculare în mecanismul de feedback tubulo-glomerular. Într-adevăr, încărcarea sodată a maculei densa care realizează inhibiția eliberării de renină produce o scădere a răspunsului de feedback tubulo-glomerular, în timp ce depleția sodată ce stimulează formarea de Ang II amplifică acest mecanism de feedback [178].

Efectul de stimulare a transportului de NaCl la nivelul maculei densa și mecanismului de feedback tubulo-glomerular de către Ang II ar putea explica unele observații experimentale în care s-au înregistrat modificări simultane ale încărcării cu NaCl a tubului distal și activitatea SRA. Astfel:

– depleția sodată cronică se însoțește de modificări foarte reduse ale rezistenței arteriolelor aferente, în schimb rezistența arteriolară eferentă crește foarte mult [135]. Scăderea încărcării tubului distal cu NaCl ca urmare a unei reduceri ușoare a ratei de filtrare glomerulară și a creșterii reabsorbției în tubul proximal din cursul depleției sodate ar produce vasodilatație aferentă, dar și o creștere a sensibilității mecanismului de feedback tubulo – glomerular ca urmare a ridicării nivelului Ang II;

– reducerea marcată a încărcării tubulare distale cu NaCl așa cum se produce în stenoza de arteră renală determină vasodilatație arteriolară aferentă în prezența unui nivel ridicat al Ang II și o creștere a sensibilității mecanismului de feedback tubulo-glomerular;

– la animale normale, perfuzia cu Ang II produce creșterea rezistenței atât a arteriolelor aferente, cât și eferente mai ales când se produce creșterea presiunii de perfuzie renală în schimb mecanismul de feedback tubulo-glomerular rămâne intact [110, 111]. Dacă însă mecanismul de feedback este blocat, iar presiunea de perfuzie este menținută constantă, Ang II nu produce creșteri semnificative ale rezistenței în vasele aferente [112].

În urma acestor observații s-a tras concluzia că Ang II în concentrații fiziologice nu produce în mod direct constricția arteriolei aferente, ci în mod indirect prin creșterea sensibilității mecanismului de feedback tubulo-glomerular. Prin scăderea încărcării cu NaCl a tubului distal datorită stimulării reabsorbției sale la nivel proximal, Ang II crește sensibilitatea mecanismului de feedback tubulo-glomerular producându-se o creștere netă a rezistenței arteriolelor aferente, considerându-se astfel că SRA este un modulator specific al mecanismului respectiv.

Scanned with OKEN Scanner

Efectul modulator al Ang II asupra semnalelor din cadrul mecanismului de feedback tubulo-glomerular s-ar putea realiza şi prin reglarea schimburilor Na/H la nivelul celulelor din macula densa [191].

De altfel această concepţie a fost introdusă într-un model matematic, ceea ce a permis simularea pe computer a celor mai multe din observaţiile experimentale prezentate [190].

Prin efectele sinergice asupra reabsorbţiei tubulare proximale şi a modulării sensibilităţii mecanismului de feedback tubulo-glomerular SRA pare să intervină în homeostazia sodiului, a volumului lichidelor extracelulare şi a presiunii sanguine în cursul insuficienţei circulatorii şi a hipovolemiei.

3.4.2.3. CONTRIBUŢIA EFECTELOR INTRARENALE ALE ANGIOTENSINEI II LA CONTROLUL PRESIUNII ARTERIALE

Sistemul renină-angiotensină participă la reglarea presiunii arteriale atât în contextul mecanismelor de scurtă durată, cât şi a mecanismelor de lungă durată. Astfel, în cadrul mecanismelor de scurtă durată Ang II intervine mai ales prin acţiunile sale extrarenale (vasoconstricţie, reducerea capacităţii vasculare, stimulare simpatico-adrenergică şi creşterea performanţei cardiace), în timp ce prin acţiunile sale intrarenale (antinatriuretice, antidiuretice etc.) contribuie la reglarea de lungă durată a presiunii arteriale.

În cadrul mecanismelor de reglare de lungă durată a presiunii sanguine, SRA intervine mai puţin prin efectele sale vasoconstrictoare. Intervenţia sa în aceste circumstanţe se realizează însă atât prin acţiuni extrarenale (stimularea secreţiei de aldosteron, a ingestiei de lichide şi a apetitului pentru sodiu etc.), dar mai ales prin efectele sale intrarenale.

Este cunoscut faptul că în cadrul mecanismelor de lungă durată care concură la reglarea presiunii arteriale rinichiul are o participare capitală prin posibilităţile sale deosebite de a interveni în menţinerea homeostaziei volemice a organismului (figura 3.11.).

Se observă că rinichiul contribuie la controlul presiunii sanguine prin mecanismul „presiune – diureză - natriureză" particularitate intrinsecă ce se manifestă şi în condiţiile organului izolat şi perfuzat. Prin acest mecanism rinichiul ajustează eliminările de sodiu şi apă în funcţie de variaţiile presiunii sistemice [192, 193, 194]. Astfel, când presiunea creşte peste valorile normale se produce o creştere a excreţiei de sodiu şi apă prin „mecanismul presiune – diureză - natriureză". În aceste condiţii excreţia depăşind aportul se realizează o reducere a volumului lichidelor extracelulare, a întoarcerii venoase şi a debitului cardiac până când presiunea revine la valorile normale. Scăderea presiunii sanguine este urmată de retenţie de apă şi sodiu prin acelaşi mecanism intrarenal până când se restabilesc valorile presionale.

Scanned with OKEN Scanner

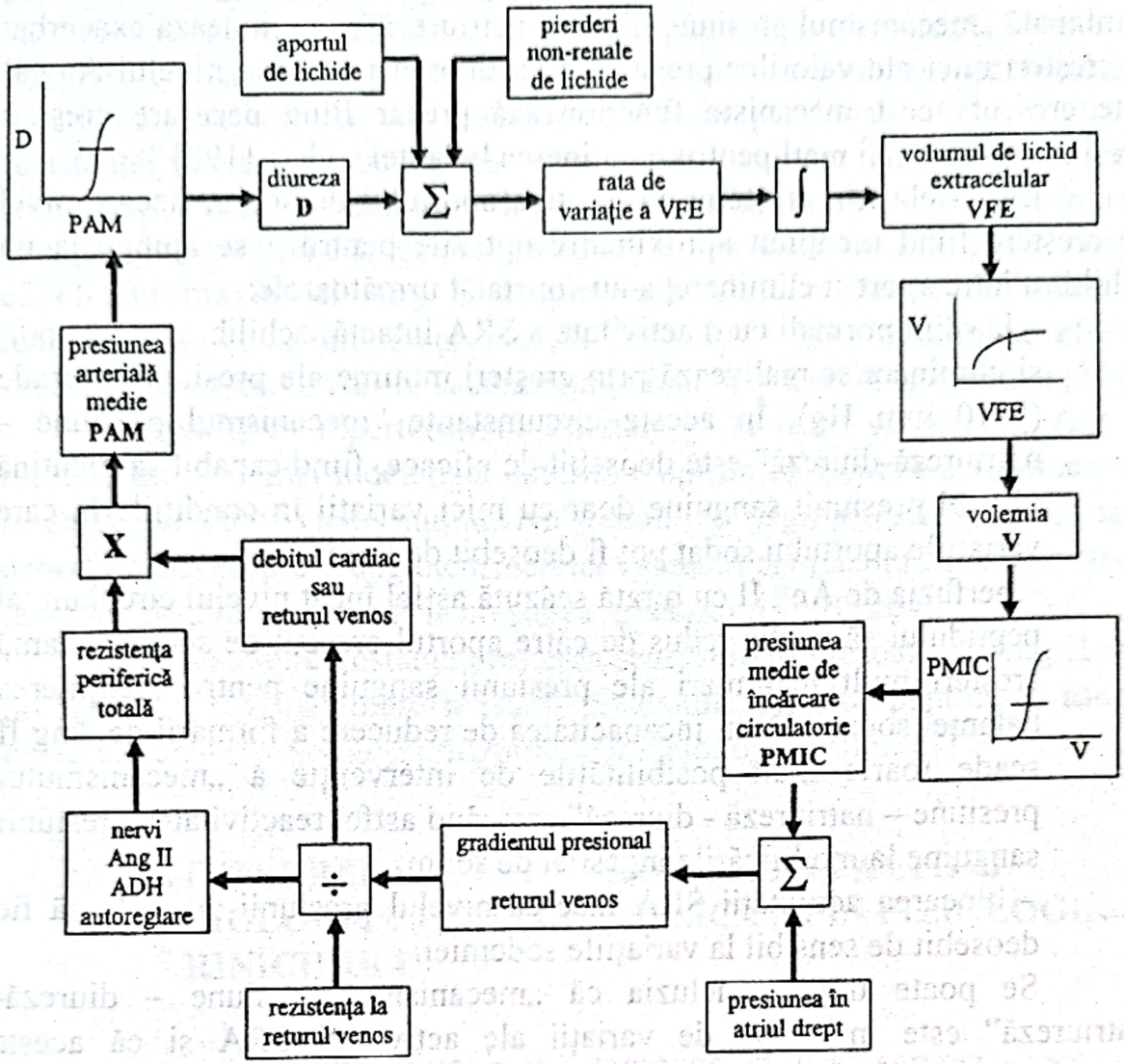


Figura 3.11. Mecanisme posibile de intervenție a rinichiului în controlul de lungă durată a presiunii arteriale [103].

Mecanismele responsabile pentru interrelațiile dintre valorile presionale şi excreția de sodiu şi apă la nivel renal deşi nu sunt complet descifrate, nu sunt doar rezultatul modificărilor forțelor fizice ce acționează la nivelul capilarelor glomerulare şi peritubulare şi a spațiului interstițial, ci şi a intervenției unor modificări neuroumorale cauzate de creşterea presiunii sanguine [195, 196, 197]. Componenta renală pură a acestor mecanisme poate fi însă evaluată dacă se realizează o creştere acută a presiunii de perfuzie în rinichiul izolat [194].

În cadrul intervenției factorilor neuroumorali la derularea „mecanismului presiune–natriureză-diureză" SRA are o participare deosebită. Astfel, în funcție de nivelul său de activare, SRA poate să amplifice funcționarea mecanismului respectiv sau să-l deprime. Prin

Scanned with OKEN Scanner

creşterea cronică a aportului sodat când generarea de Ang II este mult diminuată „mecanismul presiune-diureză-natriureză" funcţionează exacerbat la creşteri mici ale valorilor presionale şi, dimpotrivă, când nivelul Ang II este crescut acest mecanism funcţionează precar fiind necesare creşteri presionale mult mai mari pentru menţinerea balanţei sodate [198].

De altfel, prin creşterea în trepte a aportului de sodiu, fiecare nivel de creştere fiind menţinut aproximativ opt zile pentru a se ajunge la un echilibru între aport şi eliminare, s-au constatat următoarele:

– la câini normali cu o activitate a SRA intactă, echilibrul între aport şi eliminare se realizează prin creşteri minime ale presiunii arteriale (5–10 mm Hg). În aceste circumstanţe "mecanismul presiune – natriureză-diureză" este deosebit de eficace, fiind capabil să menţină nivelul presiunii sanguine doar cu mici variaţii în condiţiile în care variaţiile aportului sodat pot fi deosebit de largi;

– perfuzia de Ang II cu o rată scăzută astfel încât nivelul circulant al peptidului să nu fie redus de către aportul crescut de sodiu reclamă creşteri mult mai mari ale presiunii sanguine pentru menţinerea balanţei sodate. Deci, incapacitatea de reducere a formării de Ang II scade foarte mult posibilităţile de intervenţie a „mecanismului presiune – natriureză - diureză" crescând astfel reactivitatea presiunii sanguine la modificările ingestiei de sodiu;

– blocarea activităţii SRA face ca nivelul presiunii arteriale să fie deosebit de sensibil la variaţiile sodemiei.

Se poate trage concluzia că „mecanismul presiune – diureză-natriureză" este influenţat de variaţii ale activităţii SRA şi că acesta reprezintă unul din factorii majori de control al presiunii arteriale în cadrul mecanismelor de lungă durată. Astfel, atât timp cât SRA funcţionează normal, mari variaţii ale ingestiei de sodiu se însoţesc de modificări minime ale presiunii sanguine şi dimpotrivă modificări ale nivelului de activitate ale SRA realizează o sensibilizare deosebită a presiunii sanguine la variaţiile sodemiei.

Interrelaţiile dintre activitatea SRA şi „mecanismul presiune – natriureză-diureză" au implicaţii şi în dezvoltarea unor forme de hipertensiune arterială. Este cunoscut faptul că administrarea prelungită de Ang II la oameni sănătoşi induce creşterea presiunii arteriale, iar cantitatea de peptid necesară menţinerii statusului hipertensiv scade în timp faţă de rata de perfuzie iniţială [199]. Observaţii asemănătoare au fost făcute şi la animale de experienţă [200, 201, 202].

În explicarea acestei evoluţii au fost emise mai multe ipoteze între care activarea simpatico–adrenergică [201], hipertrofia vasculară [200] şi retenţia sodată [192, 203] Ang II-induse sunt cele mai plauzibile. Creşterea

Scanned with OKEN Scanner

presiunii realizată de Ang II este rezultatul şi al creşterii rezistenţei vasculare renale care comută „mecanismul presiune – natriureză-diureză" la un nivel ridicat de activitate, ceea ce dezvoltă mecanismul de feedback pozitiv de creştere în continuare a nivelului presional şi consecutiv a rezistenţei vasculare renale până se ajunge la insuficienţă cardiacă aşa cum se întâmplă, spre exemplu în hipertensiunea malignă de origine renală (stenoză de arteră renală, leziuni arteriolare difuze etc.). De altfel, se cunoaşte că efectul maxim al Ang II asupra reabsorbţiei tubulare de sodiu se realizează la concentraţii scăzute (10^{-10} – 10^{-11} M), în timp ce efectul vasoconstrictor maxim apare la concentraţii mult mai mari ale peptidului [144].

Dezvoltarea hipertensiunii arteriale şi la doze scăzute de Ang II reclamă un timp mai îndelungat datorită amplificării treptate a fenomenelor în cadrul cercului vicios iniţiat. Nu trebuie de neglijat nici faptul că spre deosebire de receptorii angiotensinergici vasculari cei renali răspund printr-un fenomen de „upregulation" la creşterea nivelului Ang II [204].

În aceste circumstanţe creşterea sensibilităţii presoare la Ang II este probabil, în cea mai mare măsură, rezultatul efectelor peptidului asupra excreţiei renale de sodiu şi volumului lichidelor organismului.

3.5. INTERRELAŢII ÎNTRE SRA ŞI ALŢI FACTORI BIOLOGIC ACTIVI CU IMPLICAŢII ÎN FIZIOLOGIA RINICHIULUI

Sistemul renină-angiotensină intervine în desfăşurarea „mecanismului presiune – natriureză-diureză" în interrelaţie cu alţi factori umorali locali sau sistemici. Între aceştia un loc deosebit îl ocupă autacoizii lipidici, factorii derivaţi din endoteliu, peptidele natriuretice, plasmakininele etc.

Creşterea excreţiei urinare de sodiu ca urmare a creşterii presiunii de perfuzie a rinichiului, în aparenţă, nu incumbă modificări ale fluxului sanguin renal sau a ratei filtrării glomerulare, ci mai ales scăderea reabsorbţiei tubulare a acestui ion [205, 206, 207, 208]. Mecanismele responsabile pentru modificarea reabsorbţiei tubulare a sodiului deşi nu sunt complet elucidate ar putea fi sistematizate astfel:

– scăderea reabsorbţiei de sodiu ca urmare a creşterii presiunii de perfuzie a rinichiului ar fi consecinţa creşterii presiunii în interstiţiul renal rezultat al creşterii presiunii în capilarele peritubulare [209];

– Selkurt şi colab. au sugerat că presiunea de perfuzie ridicată ar produce o scădere a gradientului osmolar cortico–medular ca urmare a creşterii fluxului sanguin medular [206];

Scanned with OKEN Scanner

Creşterea încărcării cu sodiu a porţiunii distale a tubului urinifer din cursul mecanismului presiune–natriureză-diureză declanşează mecanismul de autoreglare a ratei de filtrare glomerulară atât la nivelul nefronilor din zona superficială a corticalei, cât şi a celor juxtamedulari. Un astfel de control homeostatic implică participarea sistemelor umorale amintite şi s-ar desfăşura în modul următor (figura 3.12.).

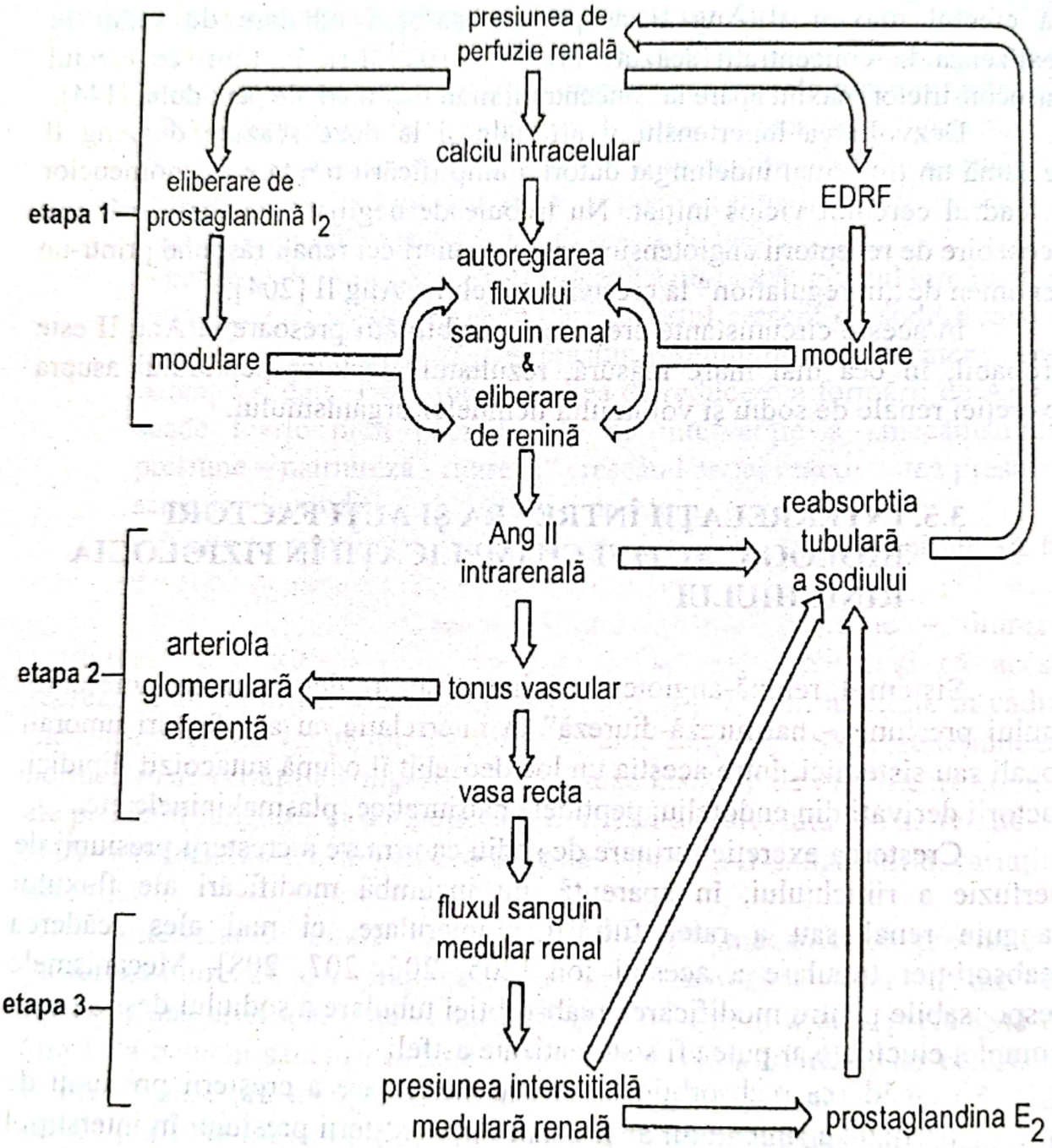


Figura 3.12. Reprezentarea interrelaţiilor funcţionale dintre sistemul renină-angiotensină, oxidul nitric şi sistemul de autacoizi lipidici iniţiate de modificările presiunii de perfuzie a rinichiului [209].

Scanned with OKEN Scanner

– în prima etapă s-ar sintetiza prostaglandina I_2 (PGI_2) şi oxid nitric de către celulele endoteliale ale arteriolei aferente care sunt în contact cu celulele juxtaglomerulare producătoare de renină. Aceste două principii biologic active influenţând secreţia de renină contribuie la modularea fenomenului de autoreglare a presiunii de perfuzie a rinichiului;

– în etapa următoare, prin modificarea nivelului Ang II în interstiţiul renal, s-ar realiza ajustarea tonusului vascular în arteriolele eferente şi în vasa recta modulându-se astfel reabsorbţia sodiului în tubul proximal;

– prin modificările hemodinamicii medulare induse de Ang II s-ar produce ajustări corespunzătoare ale presiunii în interstiţiul din zona medulară a rinichiului răspunzătoare de eliberarea prostaglandinei E_2 de către celulele interstiţiale din această zonă. Întrucât PGE_2 scade reabsorbţia tubulară a sodiului, modificările concentraţiei acestui prostanoid în interstiţiul renal ar amplifica efectele variaţiilor presiunii interstiţiale asupra natriurezei.

Prostaglandina I_2 produce relaxarea musculaturii netede vasculare şi stimularea secreţiei de renină prin eliberarea sa la polul bazal al celulelor endoteliale, în timp ce deversarea în lumen are rol de inhibare a agregării plachetare [211, 212, 213, 214].

Oxidul nitric sintetizat de celulele endoteliale are efecte atât asupra celulelor musculare netede din imediata vecinătate, cât şi în a preveni agregarea plachetară [215, 216, 217]. De altfel, sinteza oxidului nitric este în relaţie cu a PGI_2 întrucât administrarea de NO în culturi de celule inhibă sinteza de PGI_2 stimulată de bradikinină [218].

În acest context PGI_2 şi NO par să acţioneze conjunct în procesul de modulare a modificărilor fluxului sanguin renal şi a eliberării de renină ca urmare a modificărilor presiunii de perfuzie a rinichiului. Scăderea presiunii de perfuzie a rinichiului se însoţeşte de o scădere proporţională a tensiunii în peretele arteriolar ca urmare a stimulării sintezei de PGI_2 în vederea protejării rinichiului împotriva ischemiei [219]. Prostaciclina respectivă stimulează şi eliberarea de renină, iar în acelaşi timp ajungând şi în lumenul vascular inhibă tendinţa de agregare plachetară ce se regăseşte în circulaţia renală ca urmare a fluxului sanguin scăzut [212, 220]. În acelaşi timp, fluxul sanguin scăzut reduce stresul de forfecare al celulelor endoteliale, NO se sintetizează în cantitate mică sau nu se formează deloc astfel încât fluxul sanguin renal nu este influenţat pe această cale.

Interesante sunt şi interacţiunile dintre oxidul nitric şi Ang II în fiziologia rinichiului [221]. Este cunoscut faptul că blocarea sintezei de NO creşte secreţia de renină şi respectiv conţinutul în Ang II a ţesutului renal,

Scanned with OKEN Scanner

iar vasoconstricţia produsă de Ang II prin creşterea stresului de forfecare generează NO care funcţionează ca un sistem reglator al acţiunii vasoconstrictoare a numeroşi hormoni între care şi Ang II.

Blocarea sintezei de NO prin administrare de L-NAME reduce fluxul sanguin renal şi excreţia de sodiu şi apă deci şi a diurezei induse de creşterea presiunii de perfuzie a rinichiului [222]. Aceste efecte ca urmare a administrării de L-NAME, sunt rezultatul cel puţin în parte a procesului de activare a SRA cu generare de Ang II care modulează „mecanismul presiune – natriureză - diureză" prin intermediul receptorilor AT_2.

Interrelaţiile dintre oxidul nitric şi Ang II au repercursiuni şi asupra distribuţiei fluxului sanguin renal între zona corticală şi medulară. Zona medulară renală intervine în controlul excreţiei de sodiu atât în condiţii normale, cât şi în hipertensiune, întrucât în condiţiile în care fluxul sanguin cortical cât şi filtrarea glomerulară se modifică foarte puţin, în cadrul unor largi variaţii ale presiunii de perfuzie a rinichiului, fluxul sanguin medular suferă largi modificări el nefiind autoreglat. Astfel, în condiţiile în care presiunea de perfuzie creşte fluxul sanguin medular se intensifică şi consecutiv scade reabsorbţia de sodiu la nivel tubular. Acest mecanism nonadaptativ participă la controlul de lungă durată a presiunii arteriale [223].

Oxidul nitric pare să fie unul din factorii cheie ai lanţului de modificări care pot surveni în variaţiile fluxului sanguin papilar, excreţiei de sodiu şi a presiunii sanguine. Ca urmare, s-a emis ipoteza că stimularea sintezei de NO consecutivă creşterii presiunii arteriale şi interstiţiale ar fi responsabilă de lipsa fenomenului de autoreglare a fluxului sanguin papilar spre deosebire de hemodinamica corticală, care pare să fie modulată de NO şi Ang II.

Folosindu-se metoda laser–Doppler s-a constatat că fluxul sanguin papilar se modifică proporţional cu presiunea de perfuzie a rinichiului, în timp ce fenomenele de autoreglare a ratei de filtrare glomerulară se menţin la aceşti nefroni care au glomerulii în zona profundă a corticalei.

În urma acestor constatări se pot trage următoarele concluzii: fenomenul de autoreglare a ratei de filtrare glomerulară este prezent la nivelul tuturor nefronilor şi că un alt mecanism ar fi responsabil de ajustările hemodinamicii în capilarele zonei medulare şi a reabsorbţiei sodiului proporţională cu modificările presiunii de perfuzie a rinichiului. În acest sens se menţionează că NO joacă un rol deosebit de important în protejarea zonei medulare a rinichiului de efectul vasoconstrictor al Ang II şi a consecinţelor ischemice [224].

Angiotensina II şi factorul natriuretic atrial au intervenţii opuse în menţinerea homeostaziei volemice. Spre deosebire de Ang II care prin acţiunile sale generale şi locale are tendinţa de a spori capitalul sodic şi

Scanned with OKEN Scanner

hidric al organismului, factorul natriuretic atrial (ANF) care se secretă proporțional cu creșterea volemiei contribuie la redistribuirea lichidelor organismului și induce pierderea de apă și electroliți la nivel renal.

Unele efecte de ANF se interferează cu acțiunile Ang II [225]. La nivelul rinichiului antagonismul funcțional între cele două peptide se resimte la nivelul glomerulilor, tubilor uriniferi și a vaselor sanguine [226]. Interferența cu semnificațiile cele mai profunde se întâlnește la nivelul tubului proximal unde inhibarea transportului de Na^+ de către ANF pare să fie dependentă de Ang II.

Observații experimentale îndeamnă spre concluzia: efectul inhibitor al ANF asupra reabsorbției proximale de Na stimulată de Ang II este receptor dependentă [230]. Astfel, administrarea peritubulară de ANF în concentrație fiziologică (10^{-12} – 10^{-8} mol/l) determină o inhibiție doză-dependentă a transportului transtubular de sodiu stimulat de Ang II [231]. Bazele moleculare pentru interacțiunile dintre cGMP (mesagerul intracelular al ANF) și semnalul intracelular al activării receptorilor angiotensinergici, după Garcia și Garvin ar fi proteinkinaza dependentă de cGMP care ar refosforila o proteină reglatoare defosforilată anterior ca urmare a inhibării proteinkinazei A de către Ang II [232] (figura 3.13.).

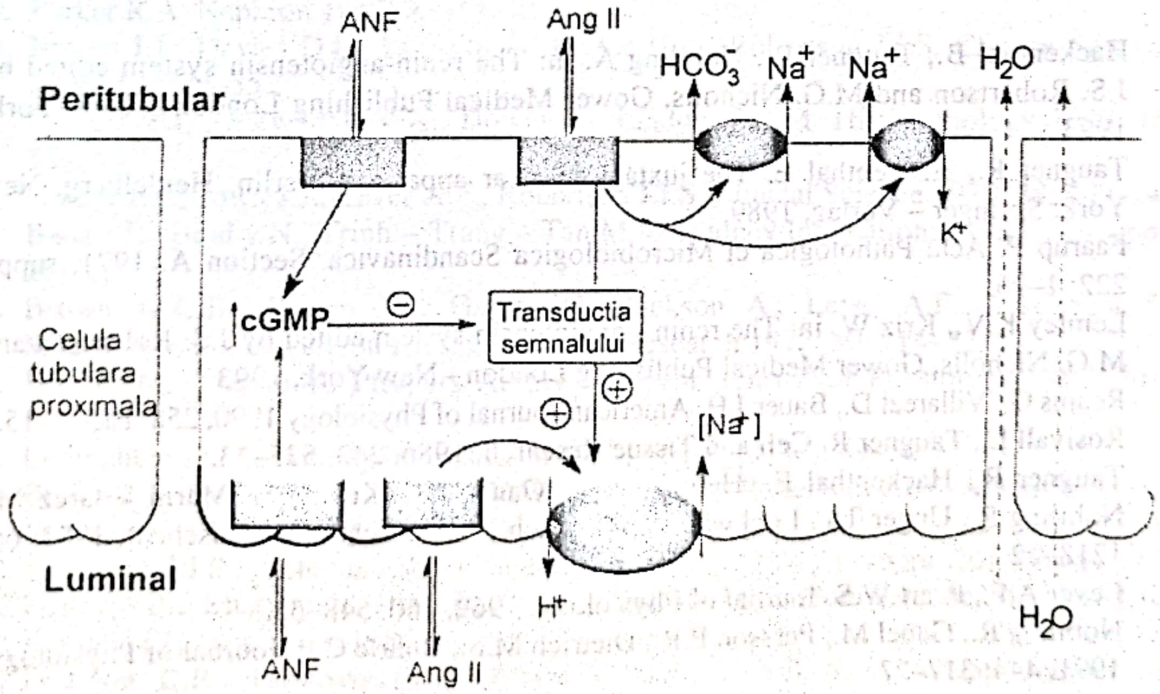


Figura 3.13. Mecanismele celulare implicate în procesul de inhibiție a transportului transtubular de sodiu Ang II - stimulat de către factorul natriuretic atrial [229].

Scanned with OKEN Scanner

Factorul natriuretic atrial, spre deosebire de Ang II are în cele mai multe circumstanțe efect vasodilatator [229]. La nivelul rinichiului ANF produce vasodilatația arteriolelor aferente și vasoconstricția celor eferente, în acest din urmă sector cele două peptide având efecte aditive [233].

În afara acestor interrelații între ANF și SRA la nivelul rinichiului este de reamintit și faptul că peptidul atrial inhibă secreția de renină. Intervenția ANF în procesul de secreție al reninei are mai multe piste:

– prin vasodilatația arteriolară aferentă, ANF intervine asupra baroreceptorilor de la acest nivel suprimând eliberarea de renină;
– prin creșterea încărcării cu Na^+ a maculei densa;
– acțiune directă asupra celulelor mioepiteliale juxtaglomerulare;
– deprimarea stimulării simpatice a aparatului juxtaglomerular.

Numeroase studii au pus în evidență că Ang II stimulează sinteza de eritropoietină prin acțiune directă asupra celulelor producătoare [234, 235, 236], iar reactivitatea vasculară la Ang II este crescută prin creșterea nivelului eritropoietinei [236]. Cât de important este efectul Ang II asupra producției de eritropoietină și care este mecanismul prin care aceasta prin sine sau prin creșterea consecutivă a hematocritului crește sensibilitatea vasculară la Ang II rămâne a fi clarificat

Bibliografie:

1. Hackenthal B., Taugner R., Nobiling A. in: The renin-angiotensin system edited by J.S. Robertson and M.G. Nicholls, Gower Medical Publishing London – New York, 1993
2. Taugner R., Hackenthal E. The juxtaglomerular apparatus. Berlin, Heidelberg, New York: Springer – Verlag, 1989.
3. Faarup P. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica. Section A, 1971, suppl. 222: 1–96.
4. Lemley K.V., Kriz W. in: The renin - angiotensin system edited by J.S. Robertson and M.G. Nicholls, Gower Medical Publishing London - New York, 1993
5. Reams G., Villareal D., Bauer J.H. American Journal of Physiology 1990, 258: F1510–15.
6. Rosivall L., Taugner R. Cell and Tissue Research, 1986, 243: 525–33.
7. Taugner R., Hackenthal E., Helmchen U., Ganten D., Kugler P., Marin – Grez M., Nobiling R., Unger Th., Lockwald I., Keilbach R. Klinische Wochenschrift, 1982, 60: 1218–22.
8. Lever A,F., Peart W.S. Journal of Physiology, 1962, 160: 548–63.
9. Nobiling R., Gabel M., Persson P.B., Dietrich M.S., Buhrle C.P. Journal of Physiology, 1991, 444: 317–27.
10. Kallskog O., Lindbom L.O., Ulfendahl H.R., Wolgast M. Pflugers Archiv, 1976, 363: 205–10.
11. Robertson J.S. in: The renin - angiotensin system edited by J.S. Robertson and M.G. Nicholls, Gower Medical Publishing London - New York, 1993

Scanned with OKEN Scanner

207.Shipley R.E., Study R.S. American Journal of Physiology 1951; 167: 676–88.
208.Knox F.G., Mertz J.I., Burnett J.C. jr., Haramati A. Circulation Research 1983; 52: 491–500.
209.Strick D.M., Romero J.C. in: The renin-angiotensin system edited by J.S. Robertson and M.G. Nicholls, Gower Medical Publishing London - New York, 1993
210. Beierwaltes W.H., Schryver S., Sanders E., Strand J., Romero J.C. American Journal of Physiology 1982; 243: F276–83.
211.Smith W.L. Annual Review of Physiology 1986; 48: 251–62.
212.Cazenave J.P., Dejana E., Kinlough – Rathbone R, Packham MA, Mustard JF. Haemostasis 1979; 8: 183–92.
213.Busse R., Forstermann U., Matsuda H., Ophl U. Pflugers Archiv European Journal of Physiology 1984; 401: 77–83.
214.Ignarro L.J. Circulation Research 1989; 65: 1–21.
215.Furchgott R.F. Circulation Research 1983; 53: 557–73.
216.Palmer R.M.J., Ferrige AG, Moncada S. Nature 1987; 327: 524–5.
217.Doni M.G., Whittle J.R., Palmer R.M.J., Moncada S. European Journal of Pharmacology 1988; 151: 19–25.
218.Dunn M.J., Zambraski E.J. Kidney International. 1980; 18: 609–22.
219.Jackson E.K., Gerkens J.F., Brash A.R., Branch R.A. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 1982; 222: 410–3
220.Madrid M.I., Garcia – Salom M., Tornel J., de Gasparo M., Fenoy F.J. Hypertension 1997, 30: 1175–1182.
221.Lahera V., Garcia – Salom M., Miranda – Guardiola F., Moncada S., Romero J.C. Am. J. Physiol. 1991, 261: F718–22.
222.Cowley A.W., Roman R.J., Fenoy F.J., Mattson D.L. J. Hypertens 1992, 19: 766–769.
223.Zou A.P., Wu F., Cowley A.W. jr. Hypertension 1997; 31(part 2): 271–276.
224.Atlas S.A., Laragh J.H. Annu. Rev. Med. 1986, 37: 397–414
225.Harris P.J., Skinner S.L. Kidney Int. 1990, 38 (suppl. 30): S87–91.
226.Rakugi H., Ogihara T., Nakamaru M., Saito H., Shima J., Sakaguchi K., Kumahara Y. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 1989; 16: 97–107.
227.Harris P.J., Thomas D., Morgan T.O. Nature 1987; 326: 697–8.
228.McMurray J., Struthers A.D. Clinical Science 1988; 74: 419–25
229.Harris P.J., Hiranyachattada S., Antoine A.M., Walker L., Reilly A.M., Eitle E. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 1996, suppl. 3, S112–S118.
230.Harris P.J., Thomas D., Morgan T.O. Nature 1987; 326: 697–8.
231.Garcia N.H., Garvin J.L. Am. J. Physiol. 1992; 263: F581–5.
232.Marin Grez M., Fleming J.T., Steinhausen M. Nature 1986; 324: 473–6.
233.Fisher J.W., Crook J.J. Blood 1962; 19: 557–65.
234.Nakao K., Shirakura T., Azuma M., Maekawa T. Blood 1967; 29: 754–60.
235.Lai K.N., Lui S.F. in: The renin-angiotensin system edited by J.S. Robertson and M.G. Nicholls, Gower Medical Publishing London - New York, 1993
236.Verbeelen D., Bossuyt A., Smitz J., Herman A., Dratwa M., Jonckheer M.H. Clinical Nephrology 1989; 31: 6–11.

Scanned with OKEN Scanner

4. IMPLICAȚIILE SRA ÎN FIZIOLOGIA GLANDEI SUPRARENALE

Hipovolemia şi colapsul circulator întâlnite în insuficiența corticosuprarenaliană nu au putut fi explicate decât după ce Simpson (1913) a întrevăzut existența unui nou hormon secretat de corticosuprarenală care are ca acțiune principală retenția sodată. Observații clinice ulterioare au precizat că în urina pacienților comatoşi se găseşte aldosteron în concentrație crescută, iar hipertensiunea hipokalemică asociată cu adenom suprarenalian secretant de aldosteron se vindecă după extirparea sa chirurgicală [1, 2]. În acest context s-a stabilit fără echivoc că glanda corticosuprarenală reprezintă una din structurile cu rol major în homeostazia sodiului şi implicit a hemodinamicii organismului.

4.1. PARTICULARITĂȚI MORFOFUNCȚIONALE ALE GLANDEI SUPRARENALE

Glandele suprarenale sunt alcătuite din două părți distincte ca origine embriologică, structură şi rol fiziologic. Regiunea internă – medulosuprarenala are origine ectodermică, la fel ca şi sistemul nervos şi conține celule foarte asemănătoare cu neuronii, diferențiate din neuroblaştii migrați din crestele neurale. Se consideră, de altfel că glanda medulosuprarenală ar reprezenta un ganglion simpatic hipertrofiat în care neuroblaştii şi-au pierdut axonul şi au căpătat caractere secretorii, elaborând doi hormoni catecolaminici – adrenalina şi noradrenalina.

Zona ce înconjură regiunea medulară - corticosuprarenala - este o glandă indispensabilă pentru menținerea vieții. De origine mezodermică ca şi gonadele, corticosuprarenala este alcătuită din structuri care din punct de vedere histologic şi funcțional pot fi identificate relativ facil:

- zona glomerulată - externă, reprezintă 15 % din masa suprarenalei ce conține celule cu diferențieri enzimatice al căror produs unic de sinteză este aldosteronul;
- zona fasciculată reprezintă cea mai mare parte a corticosuprarenalei şi care împreună cu zona reticulată reprezintă 57 % din masa glandei suprarenale;
- zona reticulată ocupă partea în contact cu regiunea medulară.

Scanned with OKEN Scanner

Corticosuprarenala fetală a primatelor conține și o zonă adițională numită generic zona fetală a suprarenalei care dispare după naștere, dar care pentru făt are o importanță deosebită întrucât ea produce hormoni androgeni ce reprezintă sursa de sinteză placentară a hormonilor estrogeni.

Glanda suprarenală primește o cantitate importantă de sânge prin intermediul ramurilor desprinse din arterele frenice și renale care formează un plex la suprafața organului, sânge ce este drenat de vene largi. În acest mod hormonii steroizi corticosuprarenali pot influența în mod direct sinteza catecolaminelor în zona medulară.

Având o inervație nesemnificativă, activitatea corticosuprarenalei este intens influențată de mesageri umorali care sunt antrenați de fluxul sanguin intens al acestei glande.

În afară de peptide și neurotransmițători, glanda păstrează mici rezerve de hormoni întrucât aceștia sunt eliberați imediat după sinteză.

Toate zonele corticosuprarenalei produc corticosteron, dar în timp ce zonele interne produc glucocorticoizi și sexosteroizi, doar zona glomerulată posedă enzime active capabile să contribuie la sinteza aldosteronului.

Hormonii secretați de glandă au ca structură de bază steranul, derivat al ciclopentanoperhidrofenantrenului care conține trei inele cu șase atomi de carbon și un nucleu cu cinci atomi de carbon (figura 4.1.).

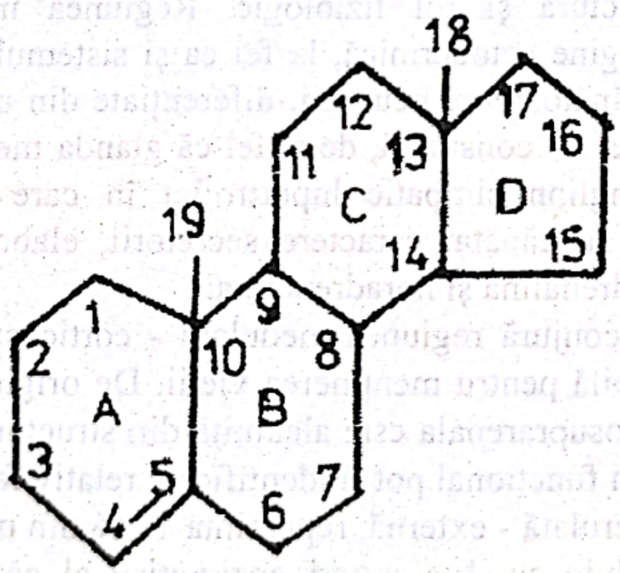


Figura 4.1. Reprezentare grafică a structurii ciclopentanoperhidrofenantrenului.

Precursorul comun al steroizilor este colesterolul care este oferit atât de plasma sanguină, dar mai ales el este sintetizat în celulele

Scanned with OKEN Scanner

corticosuprarenalei pornind de la acetat. Această sinteză, ca de altfel şi etapele ulterioare de hidroxilare necesită participarea NADP-ului redus şi consum de acid ascorbic. Colesterolul constituie substratul de rezervă pentru biosinteza steroizilor suprarenalieni, iar concentraţia sa deosebit de ridicată imprimă culoarea galben – auriu cortexului suprarenal. În contrast cu aceste bogate rezerve de colesterol, cantitatea de steroizi activi stocaţi în glandă este foarte redusă, acest status fiind însă compensat de o intensă activitate de sinteză când condiţiile o reclamă. Astfel, în prezenţa ACTH-ului spre exemplu, concentraţia de colesterol a celulei corticosuprarenalei se prăbuşeşte în câteva minute în timp ce nivelul cortizolului din sângele venei suprarenale creşte.

Steroizii sunt foarte puţin solubili în apă, sunt extraşi cu uşurinţă în solvenţi organici şi sunt trasportaţi în plasmă legaţi de proteine vectoare.

De la colesterol la hormonii activi, biosinteza parcurge o serie de etape susţinute de numeroase enzime a căror cunoaştere prezintă importanţă mai ales pentru înţelegerea bazei biochimice a activităţii lor şi a implicaţiilor defectelor enzimatice cauzatoare de diverse stări patologice. Prima etapă, care de altfel imprimă şi viteza globală a biosintezei, cuprinde mai multe reacţii enzimatice care transformă colesterolul în Δ5 – pregnenolon. Acesta este precursorul tuturor hormonilor sterolici şi din el derivă trei categorii de steroizi:

– cu 21 de atomi de carbon (pregnan), denumiţi şi corticosteroizi întrucât sinteza lor nu se realizează decât la nivelul corticosuprarenalei;
– cu 19 atomi de carbon (androstan) din care derivă androgeni;
– cu 18 atomi de carbon (estran) hormonii estrogeni.

4.2. BIOSINTEZA ALDOSTERONULUI

Etapa următoare pregnenolonului constă într-o hidroxilare în poziţia 3, se formează progesteronul care doar în mitocondriile celulelor zonei glomerulate poate fi hidroxilat în poziţia 18, rezultând 18–hidroxi-corticosteronul ce se transformă în aldosteron sub acţiunea 18–hidroxidehidrogenazei (figura 4.2.).

Sunt descrişi numeroşi precursori ai aldosteronului, fără ca aceştia să reprezinte o etapă intermediară obligatorie în biosinteza sa. În acest sens se menţionează 11β-hidroxiprogesteronul [3], 21–hidroxipregnenolonul şi 11–dehidrocorticosteronul [4], 18–hidroxi–11–desoxicorticosteronul [5] etc.

Scanned with OKEN Scanner

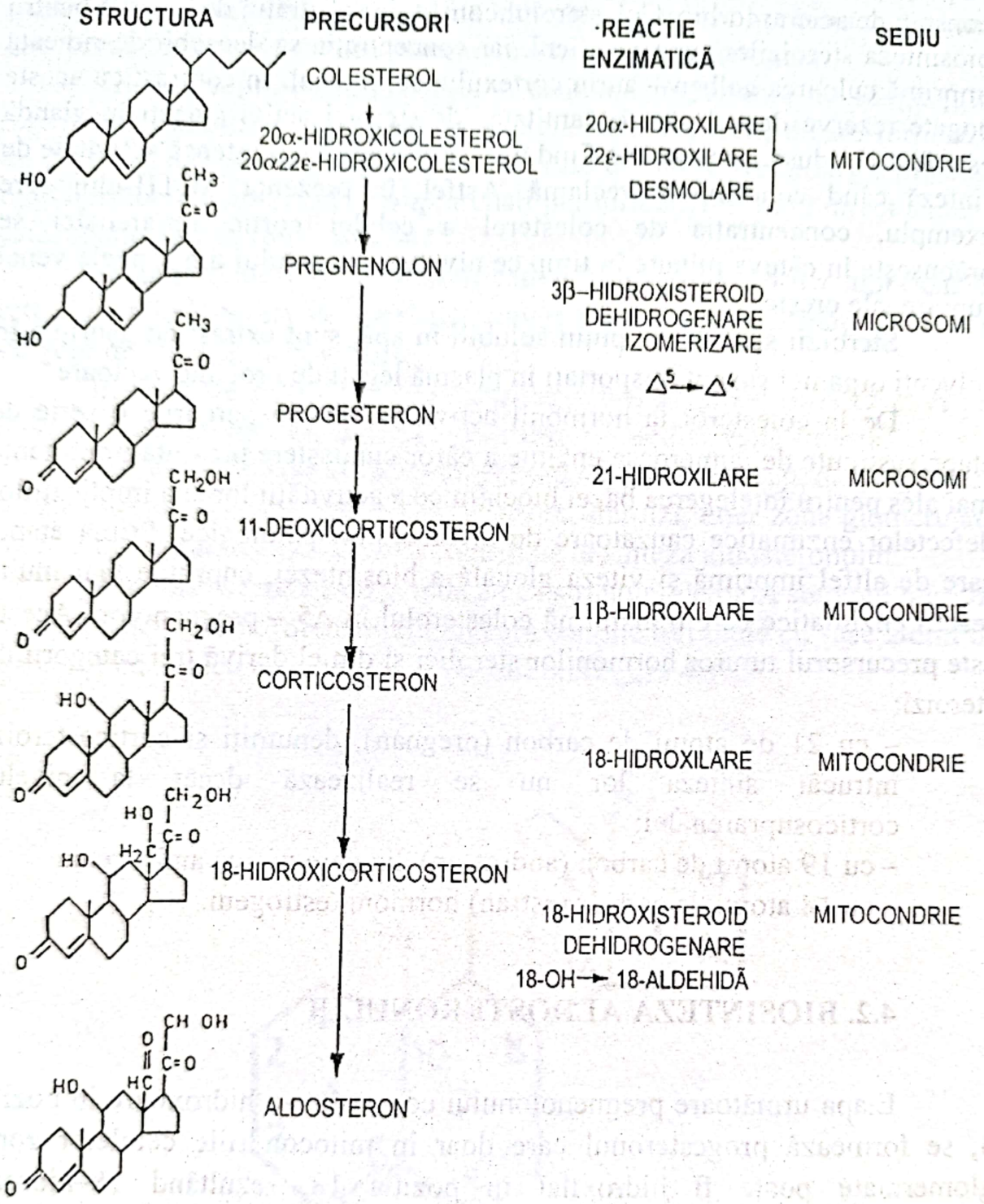


Figura 4.2. Etapele de sinteză a aldosteronului.

Este de menţionat faptul că o aceeaşi enzimă este capabilă să genereze două linii separate de sinteză în funcţie de locul de acţiune (figura.4.3.).

Scanned with OKEN Scanner

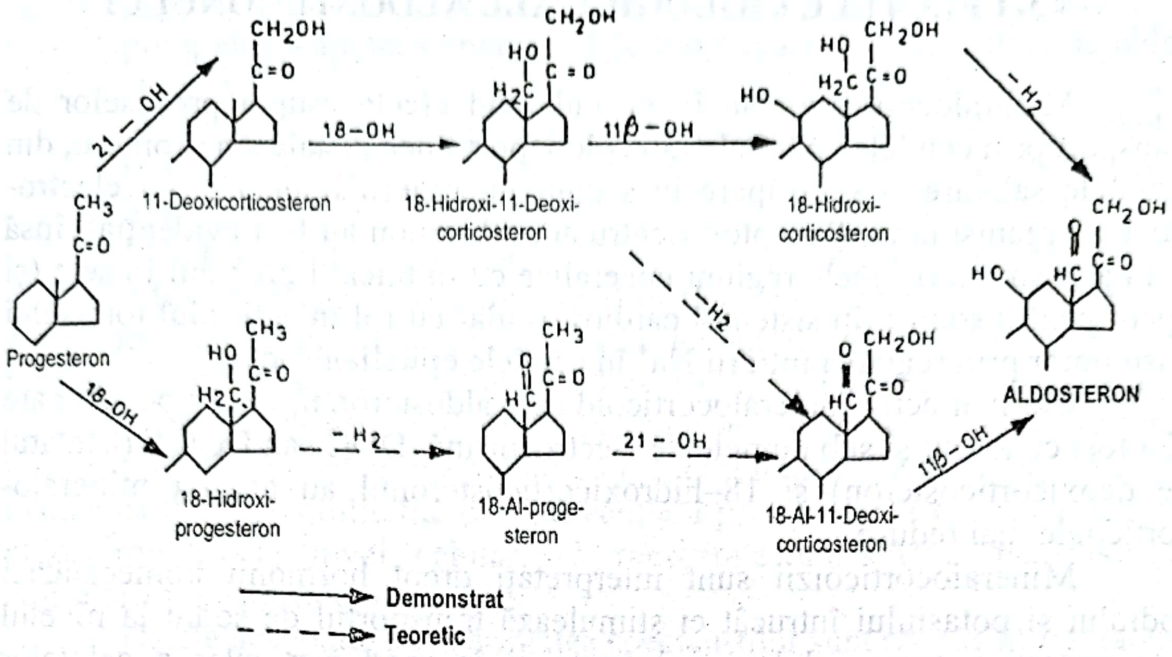


Figura 4.3. Modalități de evoluție a sintezei aldosteronului prin 18 hidroxilarea progesteronului sau a 11–desoxicorticosteronului.

Spre deosebire de generarea cortizolului care reclamă doar intervenția ACTH-ului cu rol trofic și a cAMP ca mesager intracelular, sinteza aldosteronului este influențată de numeroși factori de natură foarte diferită. Majoritatea activatorilor sintezei de aldosteron acționează în etapa de clivare a catenei laterale a colesterolului și de formare a pregnenolonului.

Acțiune mineralocorticoidă posedă mai mulți steroizi (în ordine crescândă de activitate – cortizonul și cortizolul, 11–dezoxicortizolul, corticosteronul, dezoxicorticosteronul, aldosteronul), însă la om doar aldosteronul, este cel mai puternic mineralocorticoid, având rol determinant în reglarea balanței hidroelectrolitice.

Producția zilnică de corticosteroizi este: 20 mg de cortizol, 2 mg corticosteron, 150 μg aldosteron și 20 mg de dehidroepiandrosteron.

După sinteza și secreția sa, aldosteronul circulă în plasma sanguină în parte liber (37%), iar restul legat de albumină (41%), hematii și transcortină. Afinitatea aldosteronului pentru transcortină este minimă. Faptul că aldosteronul circulă în mare parte sub formă liberă explică metabolismul său mult mai intens decât al cortizolului. Peste 90% din aldosteronul circulant este îndepărtat din sânge la o singură trecere prin ficat. La acest nivel el suferă un proces de glucuronoconjugare la nivelul C21 și această formă reprezintă 50–60 % dintre metaboliții săi urinari. O mică parte este eliminată prin bilă (5 %), în timp ce forma liberă prezentă în urină nu depășește 0,5 % din aldosteronul excretat.

Scanned with OKEN Scanner

4.3. EFECTELE BIOLOGICE ALE ALDOSTERONULUI

Mineralocorticoizii au în primul rând efecte asupra proceselor de transport prin celulele epiteliale din colon, porţiunea distală a nefronului, din glandele salivare şi sudoripare în scopul menţinerii homeostaziei electrolitice a organismului. Receptori pentru acest hormon au fost evidenţiaţi însă şi în alte structuri: unele regiuni encefalice cu implicaţii probabil în sete (şi apetit pentru sodiu); în sistemul cardiovascular cu rol în controlul tonusului vasomotor prin reglarea intrării Na^+ în celulele epiteliale etc.

Cel mai activ mineralocorticoid este aldosteronul, motiv pentru care el a fost cunoscut şi sub numele de electrocortină. DOC sau DOCA (acetatul de deoxicorticosteron) şi 18–hidroxicorticosteronul au acţiuni mineralocorticoide mai reduse.

Mineralocorticoizii sunt interpretaţi drept hormonii homeostaziei sodiului şi potasiului întrucât ei stimulează transportul de sodiu la nivelul mai multor sisteme celulare polarizate şi în mod particular a celulelor epiteliale. Reabsorbţia sodiului indusă de aldosteron la nivelul celulelor epiteliale ţintă se face în schimb cu ionul de potasiu şi în măsură mai mică cu ionii de hidrogen.

Transportul de Na^+ aldosteron–indus în celulele epiteliale îmbracă unele caracteristici particulare:

– creşterea transportului de Na^+ se realizează până la saturaţie;

– efectul se instalează după o perioadă de latenţă de 30 minute până la 2 ore – tipic pentru efectul acut;

– efectele mineralocorticoizilor pot fi prevenite prin antagonişti (mespironă) sau blocanţi de canale – amilorid;

– inhibiţie specifică prin actinomicina D care disociază transportul de Na^+ faţă de K^+.

La nivelul părţii distale a nefronului şi celulelor epiteliale colice transportul de sodiu se realizează cel puţin prin trei procese:

– la nivelul polului apical a celulelor epiteliale prin canale de Na^+-amilorid sensibile;

– difuzia Na^+ în celula epitelială;

– expulzia activă la polul bazal al celulei prin ATP-aza Na^+ - K^+.

Reabsorbţia de Na^+ mineralocorticoid-dependentă se realizează prin procese de inducere a transcripţiei şi translaţiei semnalelor ce stimulează expresia:

– canalelor apicale de Na^+, care ar creşte permeabilitatea membranei luminale – ipoteza permeazelor;

– ATP-azei Na^+ - K^+ din membranele latero – bazale – ipoteza pompelor, cunoscut fiind că expresia subunităţilor α şi/sau β a acestei enzime este sub controlul aldosteronului [6].

Scanned with OKEN Scanner

– proceselor de sinteză a substratului energetic pentru funcționarea pompelor – ipoteza energetică (citrat sintaza este stimulată de aldosteron);

– factorilor care afectează permeabilitatea pentru Na^+ la nivelul joncțiunilor strânse și în consecință a transportului de apă "leak – hypothesis" [7].

Metabolismul proteinelor – aldosteron dependente la nivelul celulelor țintă vizează sinteza *de novo* sau stimularea sintezei de pompe sau canale ionice prin activarea unor unități latente (silențioase). Este posibil ca între aceste căi să existe interrelații, în sensul că una să o determine pe alta; spre exemplu, creșterea influxului de Na^+ *per se* ar determina creșterea producției de substrat energetic și/ sau a activității ATP-azei [8]. Nu este exclus ca toate posibilitățile de intervenție a proteinelor, expresie a acțiunii aldosteronului la nivel celular, să reprezinte un singur mecanism al stimulării transportului de sodiu.

Datele acceptate de majoritatea specialiștilor sunt reunite în figura 4.4.

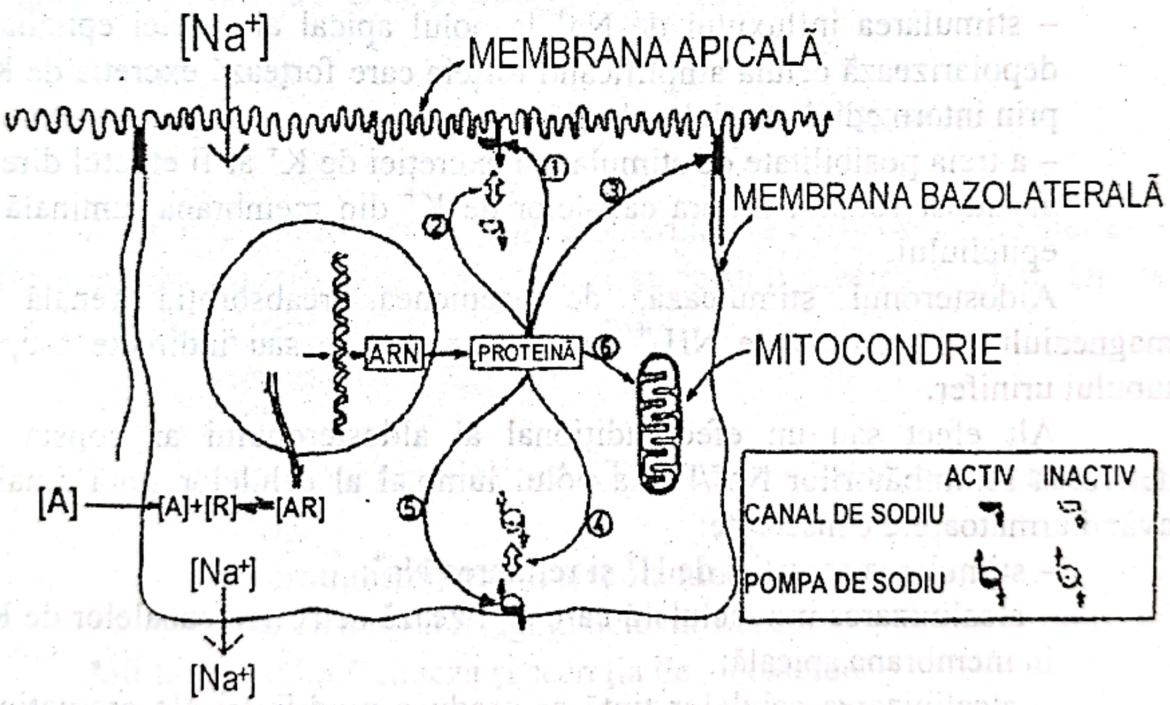


Figura 4.4. Mecanisme posibile de acțiune a aldosteronului la nivelul celulelor epiteliale (după Truscello și colab., 1986)

A – aldosteron;

R – receptor citozolic pentru aldosteron;

AR – receptor activat care se leagă cu acceptorul cromatinian.

Complexitatea fenomenelor induse de acțiunea aldosteronului la nivelul celulelor epiteliale este probată și de datele publicate de Crabbe și colab. care au pus în evidență creșterea conductanței pentru ionii de clor a pielei de amfibieni sub acțiunea acestui hormon [9].

Scanned with OKEN Scanner

Desigur, aldosteronul nu stimulează doar reabsorbția Na^+/ Cl^- la nivelul celulelor epiteliale țintă, ci și secreția de K^+ și H^+.

Reabsorbția sodiului indusă de aldosteron se face în schimb cu K^+ și în mai mică măsură cu ionul de hidrogen. Cele două acțiuni de retenție a sodiului și eliminare a potasiului nu sunt neapărat cuplate întrucât ele nu au loc simultan, iar pe de altă parte tratamentul cu actinomicina D blochează reabsorbția sodiului aldosteron-indusă fără să influențeze excreția de potasiu. În același sens pledează și observațiile făcute la animale în funcție de sex sau de prezența sau absența glandelor suprarenale, cărora li s-a administrat aldosteron. De altfel, stimularea reabsorbției de Na^+ de către aldosteron nu se realizează decât timp de 3 – 5 zile după care excreția de Na^+ revine la valorile dinaintea tratamentului, în timp ce excreția anormală de K^+ se menține pe toată perioada de administrare a hormonului.

Stimularea excreției de K^+ s-ar realiza deci în felul următor:

– activarea extruziei de Na^+ la nivelul membranelor latero–bazale este cuplată cu introducerea ionului de K^+ în celula epitelială;

– stimularea influxului de Na^+ la polul apical al celulei epiteliale depolarizează celula amplificând forțele care forțează excreția de K^+ prin intermediul canalelor de K^+;

– a treia posibilitate de stimulare a excreției de K^+ ar fi efectul direct al aldosteronului asupra canalelor de K^+ din membrana luminală a epiteliului.

Aldosteronul stimulează, de asemenea, reabsorbția renală a magneziului și excreția de NH_4^+ prin efecte directe sau indirecte asupra tubului urinifer.

Alt efect sau un efect adițional al aldosteronului ar consta în activarea schimbătorilor Na^+/H^+ la polul luminal al celulelor țintă renale, având următoarele consecințe:

– stimularea secreției de H^+ și reținerea Na^+;

– alcalinizarea intracelulară care realizează activarea canalelor de K^+ în membrana apicală;

– alcalinizarea celulelor țintă ar produce modificări ale cromatinei nucleare având ca rezultat stimularea expresiei unor specii de proteine aldosteron–induse. Aceste proteine ar activa transportul celulelor și în același timp creșterea și diferențierea celulară.

Activarea receptorilor aldosteronici și intensitatea răspunsului biologic sunt modulate de concentrația hormonului. Dar, un fenomen care nu este explicat în întregime se referă la procesul de down regulation observat la receptorii pentru aldosteron după administrarea cronică a acestui hormon la subiecți normali. După câteva zile de balanță sodată pozitivă și retenție hidrică evidențiată prin creștere în greutate, creșterea volumului

Scanned with OKEN Scanner

lichidelor extracelulare, hipokaliemie şi hipertensiune medie, excreţia de sodiu revine la nivelul dinaintea tratamentului. Deci se instalează un nou status în care reabsorbţia de Na^+ scapă de sub influenţa concentraţiilor ridicate de aldosteron. Anumiţi factori, cum ar fi creşterea volemiei şi a volumului lichidelor extracelulare, creşterea secreţiei de ANF şi scăderea presiunii oncotice din capilarele peritubulare contribuie la dezvoltarea fenomenului de scăpare. Dimpotrivă, acest proces nu apare la pacienţi cu insuficienţă cardiacă cronică şi ciroză hepatică.

În afara acţiunilor la nivelul rinichiului, aldosteronul intervine în menţinerea concentraţiei intracelulare a K^+ şi scăderea concentraţiei de Na^+ în celulele musculare şi celulele cerebrale. Hormonul exercită efecte asupra ţesutului cerebral şi prin creşterea presiunii sanguine sistemice şi prin stimularea receptorilor mineralocorticoizi din miocitele netede vasculare.

Aldosteronul poate activa şi receptorii glucocorticoizilor cu consecinţele de rigoare, însă concentraţia sa redusă în plasmă nu este capabilă să dezvolte astfel de acţiuni.

4.4. REGLAREA SECREŢIEI DE ALDOSTERON

Activitatea endocrină a zonei glomerulate a corticosuprarenalei este influenţată de anumiţi factori hormonali şi de unii electroliţi [10]. Dintre aceştia unii stimulează secreţia de aldosteron:

– angiotensinele;
– K^+;
– hormoni hipofizari (ACTH, α şi β - MSH, β endorfinele şi ADH);
– neurotransmiţători (catecolaminele, serotonina);
– alţi factori secretagogi neidentificaţi.

Alţi factori inhibă sinteza şi secreţia de aldosteron:

– factorul natriuretic atrial;
– dopamina;
– somatostatinul;
– probabil şi factorul natriuretic ouabain – like.

Rezultă că sinteza şi secreţia de aldosteron sunt controlate prin mecanisme multiple şi în acelaşi timp extrem de complexe care se intrică la nivelul celulelor glandulare din zona glomerulată a suprarenalei (figura 4.5.).

Cei mai importanţi factori care stimulează secreţia de aldosteron par a fi angiotensinele şi K^+.

Scanned with OKEN Scanner

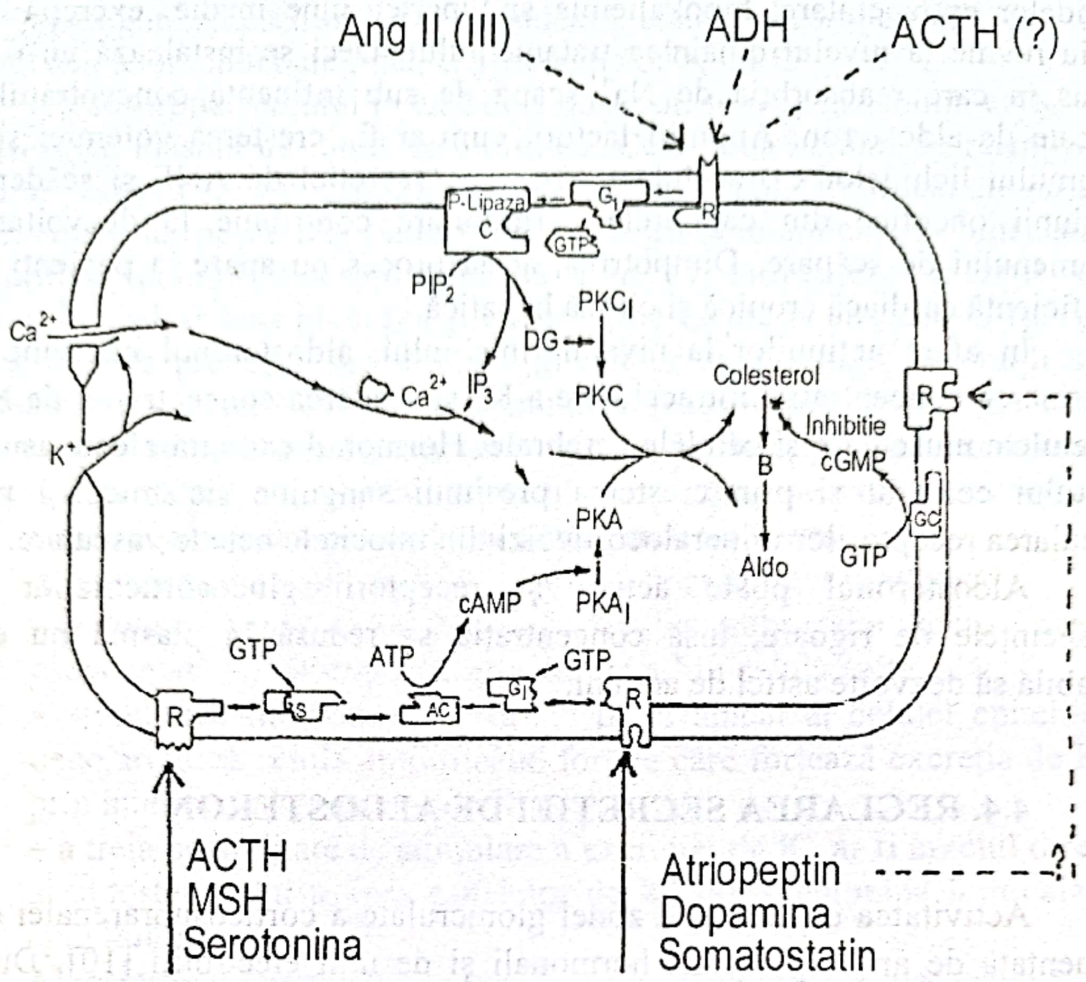


Figura 4.5. Factori care influenţează secreţia de hormoni mineralocorticoizi la nivelul zonei glomerulate a glandei corticosuprarenale [10].

4.4.1. SISTEMUL RENINĂ - ANGIOTENSINĂ – FACTOR PRIMAR DE STIMULARE A SECREŢIEI DE ALDOSTERON

Din deceniul al 5-lea al secolului trecut se consideră că SRA reprezintă factorul principal care controlează secreţia de aldosteron la animalul adult. Astfel, administrarea de extract renal crud [11] sau de Ang II sintetică [12] la diferite specii de mamifere produce o puternică stimulare a secreţiei de aldosteron şi o foarte uşoară influenţare a formării de glucocorticoizi. Un efect selectiv steroidogenetic privind secreţia de aldosteron a fost de asemenea observat atât la mamifere, cât şi la vertebrate inferioare [13].

Efectul de stimulare a sintezei de corticosteroizi ca răspuns la administrarea Ang II este diferit faţă de cel produs de către ACTH. Astfel, mici cantităţi de hormon corticotrop hipofizar induc creşteri marcate ale eliberării de 17 – hidroxicorticoizi, dar au efect considerabil mai scăzut asupra secreţiei de aldosteron [14].

Scanned with OKEN Scanner

Pentru a elucida natura exactă a acţiunii SRA la nivelul cortexului suprarenal s-au întreprins studii metabolice după administrarea H^3 – Ang II. Astfel, injectarea acestui compus intravenos este urmată de o creştere a radioactivităţii mai ales a suprarenalei, iar mobilitatea electroforetică a substanţei radioactive din glanda respectivă este identică cu a angiotensinei II [15].

În aceeaşi perioadă Davis şi Ganong şi colab. [16, 17] au demonstrat efectul direct de stimulare a biosintezei aldosteronului de către angiotensina II la nivel corticosuprarenal prin perfuzia suprarenalei izolate, pentru ca Muller [18] să confirme aceste date prin experienţe *in vitro*, pe ţesut suprarenalian. S-au adăugat apoi dovezi indirecte de participare nemijlocită a rinichiului la adaptarea secreţiei de aldosteron. La animale cu hiperaldosteronism secundar ca urmare a depleţiei cronice de sodiu, a constricţiei cronice a venei cave inferioare la nivel toracic sau insuficienţă cardiacă, extirparea rinichiului determină o scădere marcată a secreţiei de aldosteron în timp ce adminsitrarea de extract renal la aceste animale induce o creştere selectivă a secreţiei de aldosteron [19, 20].

Blair–West şi colab. [21] au arătat că în procesul de stimulare a secreţiei de aldosteron de către angiotensina II apare fenomenul de tahifilaxie între 3 şi 10 ore, însă Urquhart şi colab. [22] şi Laragh şi colab. [23] nu vorbesc de un astfel de fenomen nici după 11 zile de perfuzie cu angiotensină la câine şi respectiv om. Aceste din urmă constatări au permis emiterea supoziţiei că sistemul renină-angiotensină-aldosteron reprezintă un important mecanism homeostatic de control al metabolismului apei şi electroliţilor şi implicit al volumului sanguin.

Urmărindu-se evoluţia SRA în cursul stărilor de hiperaldosteronism s-a observat la câini cu constricţia venei cave inferioare o creştere a conţinutului în renină a rinichiului, hiperplazie şi hipergranulare a celulelor juxta-glomerulare [16]. În acelaşi timp s-a arătat că răspunsul presor după injectarea intravenoasă de angiotensină II, intravenos, este foarte redus la câini cu hiperaldosteronism secundar, ca urmare a constricţiei venei cave inferioare sau în depleţie sodată [16]. Acelaşi fenomen a fost pus în evidenţă de altfel şi la animalele cu insuficienţă cardiacă ca urmare a unei fistule arterio–venoase [20]. De asemenea, Laragh [23] a atras atenţia asupra faptului că pacienţii cu ciroză hepatică răspund foarte puţin la injectarea de angiotensină II sintetică.

În favoarea supoziţiei că SRA intervine în reglarea secreţiei de aldosteron sunt şi datele publicate în urma studiilor cu anticorpi antirenină. Astfel, Hartroft [24] a arătat că transferul pasiv al antiserului produs de injectarea preparatelor crude de renină la câini în depleţie sodată, determină o creştere a excreţiei de sodiu.

Scanned with OKEN Scanner

Ganong şi colab. [25] au găsit că atât stimularea secreţiei de aldosteron, cât şi activitatea presoare sunt absente după injectarea preparatelor de renină incubate în prealabil cu plasmă omoloagă de la animale imunizate pentru renină.

Cele mai convingătoare argumente pentru demonstrarea interrelaţiilor dintre SRA – aldosteron au fost aduse în urma analizei nivelului reninei şi angiotensinei II în plasma obţinută din sângele venos renal şi periferic sau limfă de la animalele cu hiperaldosteronism secundar.

Trebuie precizat că, deşi literatura abundă în date privind intervenţia SRA în patogenia diverselor forme de hiperaldosteronism secundar, este dificil de interpretat exact rolul acestui sistem în homeostazia aldosteronului la om.

Introducerea tehnicilor radioimunologice de dozare a aldosteronului şi a angiotensinei II a făcut posibilă iniţierea unor studii de fiziologie comparată a sistemului renină - angiotensină - aldosteron. Davis şi colab. [26] bazându-se pe datele care sugerează intervenţia SRA în controlul secreţiei de aldosteron la mamiferele primitive şi la vertebratele inferioare, înaintează ideea importanţei acestui sistem în homeostazia hidroelectrolitică umană.

La scurt timp după descoperirea SRA – aldosteron s-a sugerat funcţionarea sa prin mecanism de feedback negativ. Oricare ar fi mecanismul de eliberare al reninei, aceasta ajungând în plasmă iniţiază lanţul proceselor enzimatice generatoare de angiotensină II. Angiotensina II acţionează direct la nivelul zonei glomerulate stimulând biosinteza aldosteronului. Imediat, se observă o creştere a secreţiei de cortizol şi corticosteron, efect contracarat de intervenţia hipofizei anterioare cu scopul de a restabili nivelul normal al glucocorticoizilor plasmatici [27]. Existenţa acestui mecanism de feedback negativ este probată şi de faptul că în hiperaldosteronismul secundar, output-ul glucocorticoizilor este normal, în timp ce nivelul crescut al aldosteronului plasmatic este rezultatul prezenţei Ang II în concentraţie ridicată. Nu trebuie exclus nici faptul că în anumite forme de hiperaldosteronism secundar, nivelul crescut al aldosteronului este rezultatul scăderii ratei sale de metabolizare [28].

Ficatul fiind principalul loc de metabolizare al aldosteronului este lesne de înţeles că va putea degrada o cantitate mai mare sau mai mică de hormon în funcţie de fluxul său sanguin.

Astfel, prin schimbarea poziţiei din decubitus dorsal în ortostatism, fluxul sanguin hepatic scade cu aproximativ 50 % [29] aşa încât rata de metabolizare al aldosteronului se înjumătăţeşte şi deci nivelul său plasmatic se dublează [30]. În anumite circumstanţe clinice şi în unele situaţii experimentale, rata metabolismului aldosteronului este redusă având ca

Scanned with OKEN Scanner

rezultat creşterea concentraţiei sale plasmatice. Este vorba de hemoragii acute şi insuficienţă cardiacă experimentală [28], congestie venoasă experimentală [31], insuficienţă cardiacă decompensată la om [32]. Se poate remarca faptul că în toate aceste situaţii fluxul sanguin hepatic este redus şi nivelul de metabolizare pare să fie controlat de un sistem de flux limitat [28, 30].

Cercetări ulterioare au pus în evidenţă că interrelaţia între Ang II şi secreţia de aldosteron este evidentă şi la om, astfel încât la ora actuală se consideră că atât la subiecţii sănătoşi, cât şi în cazuri patologice, fluctuaţiile Ang II sunt primele responsabile. Alte studii care au urmărit variaţiile secreţiei de aldosteron [33] au evidenţiat că şi Ang III are proprietăţi aldosterono-eliberatoare ca şi Ang II [34], ba mai mult, s-a încercat să se considere că heptapeptidul ar putea fi considerat un hormon aldosteronotrop [35].

Efectele angiotensinelor asupra celulelor glandulare din zona glomerulată sunt iniţiate odată cu legarea peptidelor cu receptorii lor specifici de la nivelul membranei acestora.

La nivelul membranei celulelor corticosuprarenalei s-au evidenţiat atât receptori AT_1, cât şi AT_2.

După cum este cunoscut cele mai multe acţiuni biologice ale Ang II sunt mediate de receptorii AT_1 şi în mod particular de subtipul AT_{1A}. Stimularea secreţiei de aldosteron de către Ang II se realizează însă de receptorii AT_{1B} prezenţi în membrana celulelor din zona glomerulată a corticosuprarenalei [36]. Traducerea semnalului se realizează prin intermediul unei proteine G care activează fosfolipaza C membranară ce are drept rezultat formarea intracelulară a doi mesageri – 1,4,5 inozitoltrifosfat (IP_3) şi diacilglicerol (DAG). Inozitoltrifosfatul induce creşterea concentraţiei Ca^{2+} citozolic, în timp ce DAG activează proteinkinaza C intracitoplasmatică (PKC). Consecinţele biochimice ale acţiunii celor doi mesageri de ordinul doi se repercută atât asupra etapelor iniţiale (conversia colesterolului în pregnenolon), cât şi asupra etapelor finale (conversia corticosteronului în aldosteron) din lanţul de sinteză.

Creşterea iniţială a Ca^{2+} intracelular activează calmodulina şi astfel complexul Ca^{2+}- calmodulină activează protein kinazele ce intervin în etapele iniţiale ale răspunsului steroidogenetic la acţiunea Ang II. Sinteza şi secreţia susţinută de aldosteron reclamă influx de Ca^{2+} prin intermediul canalelor de calciu T – voltaj dependente, concomitent cu activarea PKC de către diacilglicerol.

Există date care au pus în evidenţă că interacţiunea Ang II cu receptorii AT_2 prezenţi în corticosuprarenală ar controla secreţia de ouabaină endogenă [37] pe căi diferite de cele prin care receptorii AT_1 controlează

Scanned with OKEN Scanner

secreția de aldosteron. Astfel, activarea receptorilor AT_2 de către Ang II ar fi urmată atât de creşterea concentrației GMP, cât şi de activarea fosfotirozin fosfatazelor.

Cercetări numeroase au urmărit implicațiile SRA în reglarea secreției de aldosteron în condițiile depleției sodate. S-a pornit de la observațiile lui Luetscher şi Axelrod [38] care, măsurând excreția urinară a aldosteronului au observat o creştere a producției acestuia în condițiile unei ingestii scăzute de sodiu. Aceste rezultate au fost probate la scurt timp de Hernando – Avendano şi colab. [39] şi ulterior Bartter şi colab. [40], iar Davis [26] a evidențiat strânsa relație între secreția de aldosteron şi depleția sodată la câine. Una dintre primele observații că rinichii joacă un important rol în reglarea producției de aldosteron în timpul depleției sodate a fost pusă în evidență la câine la care nefrectomia determină o puternică scădere a secreției hormonului respectiv (figura 4.6.).

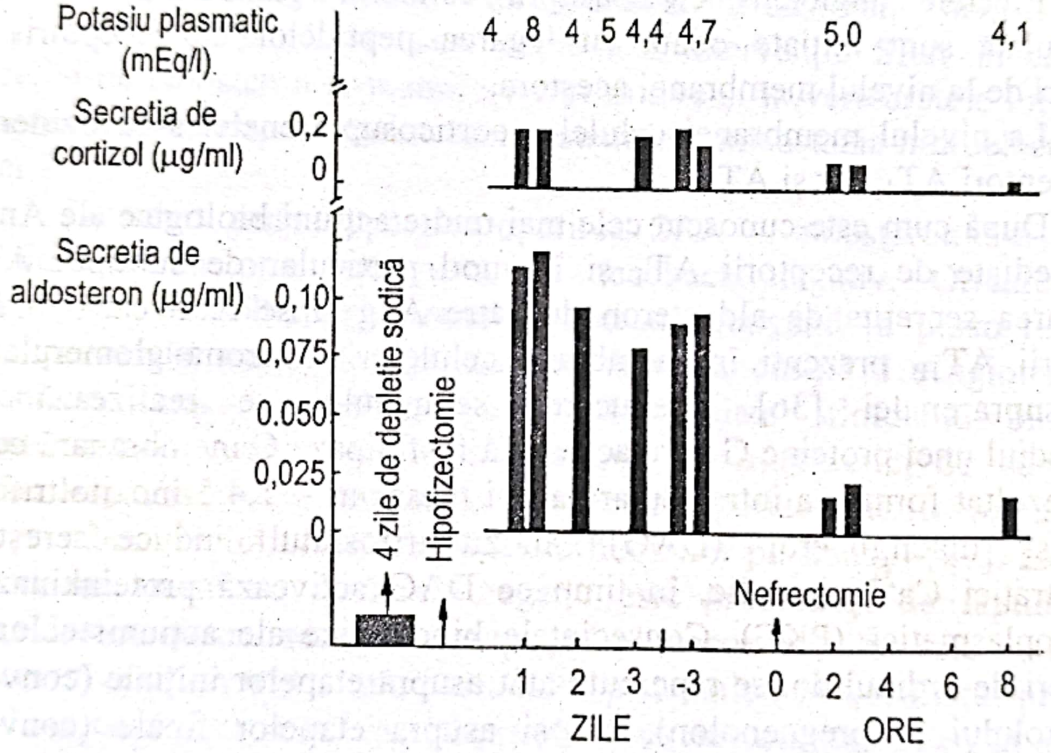


Figura 4.6. Efectul nefrectomiei asupra secreției de aldosteron la câini în depleție sodată [26].

Informații mult mai specifice în acest sens au fost obținute prin studiul nivelului reninei sau angiotensinei II din plasmă în condițiile unei ingestii scăzute de sodiu sau în depleție sodată.

Brown şi colab. [41] au pus în evidență o creştere semnificativă a concentrației reninei plasmatice la şase studenți în cursul privațiunii de sare, iar administrarea de sodiu în cantitate mare, la subiecți normali, produce o scădere a concentrației plasmatice a reninei. Această corelație între nivelul

Scanned with OKEN Scanner

ARP şi balanţa sodată la om a fost confirmată ulterior de numeroase lucrări [42, 43, 44, 45]. Aceeaşi corelaţie a fost remarcată şi între valoarea Ang II plasmatice şi concentraţia sodiului [46, 47, 48].

Binnion şi colab. [27] au găsit o activitate a reninei plasmatice crescută la câini în timpul depleţiei sodate, iar Brown şi colab. [49] şi Vander şi Luciano [50] au descris acelaşi efect după două ore de la administrarea fie a diureticelor mercuriale, fie a clorotiazidei. Scăderea sodiului plasmatic la 101 mEq/l a indus o creştere de patru ori a ARP după o zi şi de opt ori în a patra zi, în timp ce substratul reninei a rămas nemodificat [27].

Încercând să precizeze etapa din lanţul biosintezei aldosteronului în care intervine scăderea concentraţiei plasmatice a sodiului, Bledsoe şi colab. [51] au arătat că toate modificările induse au loc înaintea formării desoxicorticosteronului. Davis şi colab. [52] au precizat că deficitul de sodiu influenţează conversia corticosteronului în aldosteron, având, de asemenea, acţiune şi în etapele iniţiale dinaintea sintezei desoxicorticosteronului. După perfuzia intravenoasă cu angiotensină II sintetică, Davis şi colab. [53] au observat o creştere marcată a secreţiei de aldosteron la câinele normal (figura 4.7.).

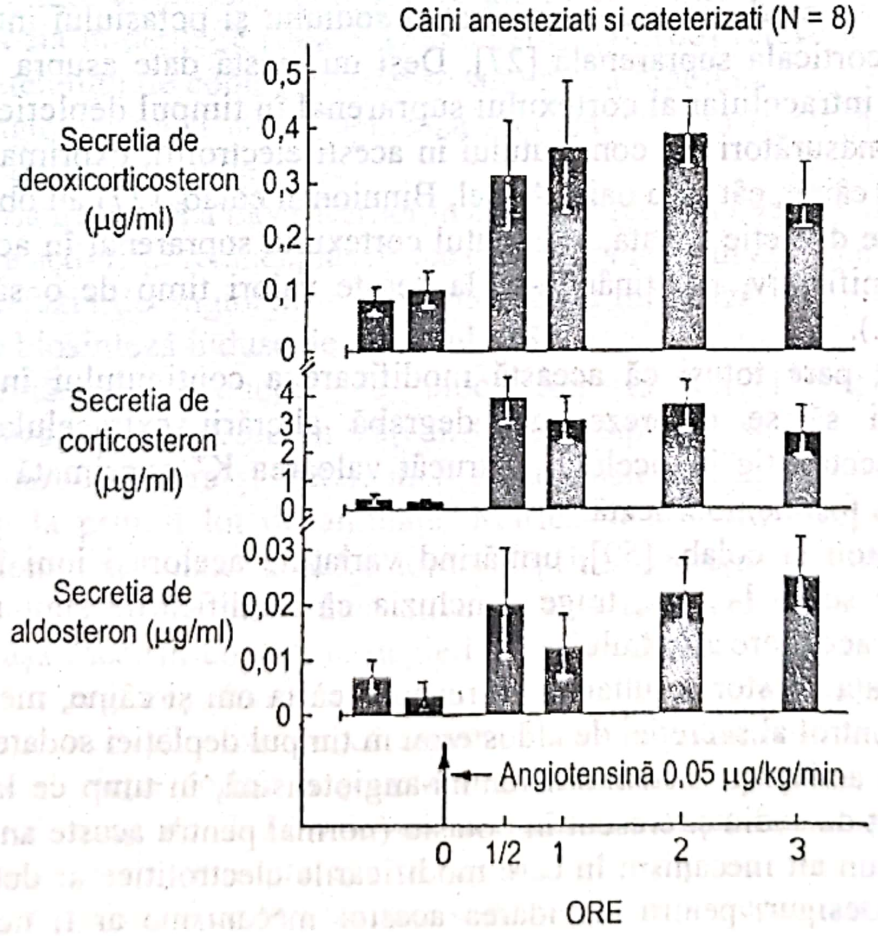


Figura 4.7. Efectul perfuziei de angiotensina II asupra secreţiei de dezoxicorticosteron, corticosteron şi aldosteron [53].

Scanned with OKEN Scanner

Deşi în studii iniţiale, Blair–West şi colab. [54] nu au pus în evidenţă nici un efect indus de nefrectomie asupra secreţiei de aldosteron la oaie, ulterior acelaşi grup a arătat că la oi hipofizectomizate şi în depleţie sodată, nefrectomia scade nivelul plasmatic al aldosteronului până la valoarea găsită la animalele cu nivel normal de sodiu [55, 56]. Acest efect nu este decelabil decât după 10 – 12 ore de la nefrectomie.

Se poate spune că deficienţa în sodiu ar reprezenta un important factor care să determine procesele cele mai rapide ce intervin în controlul mecanismelor de secreţie a aldosteronului [57]. Totuşi, există anumite divergenţe în ceea ce priveşte mecanismul de control, în funcţie de specie. Astfel, un regim alimentar cu deficit de sodiu, existent de altfel pe o mare suprafaţă a pământului, poate influenţa ierbivorele, în cazul nostru oile, mai mult decât carnivorele. Sodiul este scăzut în lapte, iarbă şi frunze şi din contră potasiul este crescut aşa încât mediul intern în dezvoltarea ontogenetică, la oaia adultă, diferă faţă de a câinelui sau a omului. În aceste circumstanţe este posibil după Denton [58] să existe un mecanism adiţional pentru controlul secreţiei de aldosteron cu o importanţă deosebită pentru oaie.

Una din posibilităţile acestui mecanism adiţional în timpul depleţiei sodate este de modificare a concentraţiei sodiului şi potasiului intracelular apărută în corticala suprarenală [27]. Deşi nu există date asupra nivelului electrolitic intracelular al cortexului suprarenal în timpul depleţiei sodate, s-au făcut măsurători ale conţinutului în aceşti electroliţi, exprimat la ţesut solid atât la câine, cât şi la oaie. Astfel, Binnion şi colab. [27] au observat că după o zi de depleţie sodată, conţinutul cortexului suprarenal în acest ion a scăzut semnificativ, menţinându-se la aceste valori timp de o săptămână (tabelul 4.1.).

Se pare totuşi că această modificare a conţinutului în sodiu a suprarenalei să se datoreze mai degrabă alterării extracelulare decât nivelului electrolitic intracelular, întrucât valoarea K^+ exprimată în grame ţesut solid a fost nemodificată.

Denton şi colab. [59], urmărind variaţiile aceloraşi ioni în timpul spolierii de sodiu la oaie, trage concluzia că modificările sunt rezultatul scăderii intracelulare a sodiului.

În faţa acestor rezultate s-a presupus că la om şi câine, mecanismul major de control al secreţiei de aldosteron în timpul depleţiei sodate ar putea fi creşterea activităţii sistemului renină-angiotensină, în timp ce la oaie cu aport scăzut de sodiu şi crescut în potasiu (normal pentru aceste animale) ar fi implicat un alt mecanism în care modificările electrolitice ar deţine rolul principal. Desigur, pentru elucidarea acestor mecanisme ar fi necesar un studiu dinamic al transportului de Na^+ şi K^+ prin celulele corticosuprarenale, *in vitro*, legat de urmărirea biosintezei de aldosteron.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 4.1. Modificarea conținutului în sodiu și potasiu plasmatic și a glandei corticosuprarenale în timpul depleției sodate[27]

	Conținutul plasmatic mEq/l		Conținutul în sodiu al glandei suprarenale mEq/100g țesut	Deficit net de Na (mEq)	Conținutul în K a glandei suprarenale mEq/100g țesut
	Na	K			
Câini martori	142 ± 0,6	3,8 ± 0,1	27,7 ± 1,3	-	42,1 ± 1,4
Câini după o zi de depleție sodată	142 ± 1,1	3,8 ± 0,2	22,8 ± 0,5	92	46 ± 1,5
Câini după 4 zile de depleție sodată	137 ± 1,1	4,7 ± 0,2	23,6 ± 1,2	179	44,2 ± 1,3

Inițiind studii mai aprofundate ale mecanismului secreției de aldosteron la oaia în depleție sodată, Denton și colab. [60] relevă complexitatea naturii sistemului de control. Astfel se subliniază faptul că:

1. angiotensina II nu influențează secreția de aldosteron la animale cu deficit moderat de sodiu;
2. lipsa frecventă a modificărilor în aceeași direcție a secreției de aldosteron și a activității reninei plasmatice care apar în cursul deficienței de sodiu;
3. perfuzia de angiotensină II sintetică nu mimează complet procesele de biosinteză induse de deficitul sodat.

Urmărind producția de aldosteron la un lot de șobolani nefrectomizați și hipofizectomizați în timpul depleției sodate în paralel cu animale martor, Eilers și Peterson [61] au găsit o scădere a secreției de aldosteron la primul lot de animale. Marieb și Mulrow [62] au găsit că hipofizectomia asociată cu nefrectomia deprimă secreția de aldosteron, iar perfuzia de angiotensină ridică nivelul secretor doar până la valorile normale, așa încât în condițiile depleției sodate octapeptidul ar juca un rol secundar în reglarea funcției mineralocorticoide a glandei suprarenale. Acești cercetători au observat că hipertrofia zonei glomerulate apare după 10 zile de depleție sodată a șobolanilor normali, în timp ce perfuzia de angiotensină timp de 7–12 zile nu are nici un efect morfologic și nici secretor asupra corticosuprarenalei. În același timp nu s-au descris nici efecte hipertensive. Aceste rezultate pun în evidență necesitatea existenței unui anumit nivel al angiotensinemiei pentru a genera efectul respectiv. De altfel, Csanky , van der Wal și de Weid [63] au confirmat rezultatele lui

Scanned with OKEN Scanner

Marieb şi Mulrow în ceea ce priveşte efectul depresor al hipofizectomiei asociată cu nefrectomia asupra elaborării de aldosteron prin experienţe *in vitro*.

Kinson şi Singer [64] au studiat efectele regimului cu restricţie sodată asupra răspunsului corticosuprarenal la angiotensină II şi ACTH după extirparea hipofizei şi rinichilor. În timp ce la animalele cu depleţie sodată, angiotensina II nu modifică semnificativ secreţia de aldosteron, la şobolani în depleţie sodată se produce o creştere semnificativă şi în acelaşi timp selectivă a secreţiei corticosuprarenalei în ceea ce privşte aldosteronul, întrucât producţia de corticosteron rămâne neschimbată. Este de semnalat faptul că sporirea secreţiei de aldosteron se produce chiar când efectele presoare sunt minime (în medie 26 mm Hg).

Deşi problema mecanismelor responsabile de hipersecreţia de aldosteron în timpul depleţiei sodate la şobolan nu este rezolvată satisfăcător, majoritatea cercetătorilor sunt de acord asupra faptului că:

1. activitatea reninei plasmatice este crescută la şobolani în depleţie sodată;
2. atât angiotensina endogenă, cât şi cea sintetică cresc producţia de aldosteron la şobolan.

Utilizarea anticorpilor antirenină la câini a adus date în plus privind rolul SRA ca mediator al creşterii secreţiei de aldosteron în timpul depleţiei sodate [25]. Hartroft [24] a observat că transferul pasiv de antirenină creşte uşor excreţia renală de sodiu la câini în depleţie sodată.

Desigur, nu trebuie neglijaţi şi alţi factori care ar putea controla secreţia de aldosteron în cursul depleţiei sodate. Dintre aceştia reţin atenţia nivelul plasmatic al sodiului, potasiului şi hormonului adenocorticotrop hipofizar (figura 4.8.).

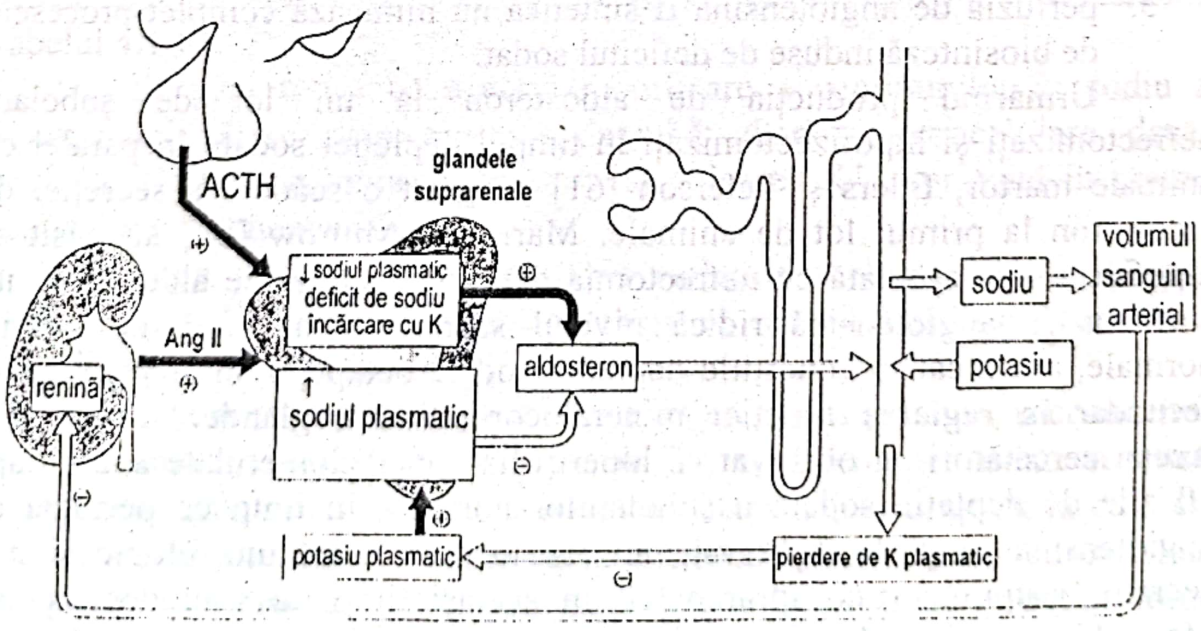


Figura 4.8. Interrelaţii între SRA, nivelul sodiului şi potasiului plasmatic şi hormonul adenocorticotrop în controlul secreţiei de aldosteron [91].

Scanned with OKEN Scanner

Pentru a putea concilia în oarecare măsură diferitele păreri în ceea ce priveşte mecanismele care intervin în secreţia de aldosteron din cursul depleţiei sodate, ar trebui acceptată posibilitatea ca procedeele reglatoare să fie influenţate prin interacţiunea diverşilor factori. O astfel de interacţiune ar putea fi expresia fiziologică a modificării sensibilităţii glandei corticosuprarenale la acţiunea specifică a unuia din cei patru factori implicaţi [109, 110, 111, 112].

Utilizarea autotransplantului de suprarenală la oaie [65, 66] a permis administrarea locală a substanţelor care afectează secreţia de aldosteron. Aceste tehnici au eliminat reacţiile esenţiale extrasuprarenale ca urmare a injectării diverselor substanţe, cât şi implicaţiile recirculării lor. Acest model experimental a fost utilizat în special pentru urmărirea efectelor Ang II şi ACTH.

Administrând concomitent Ang II şi NaCl hipertonică (în cantitate suficientă pentru a creşte nivelul plasmatic al Na^+ cu 10 mEq/l în artera suprarenală la oaie), Blair–West şi colab. [67] au obţinut un efect stimulator asupra secreţiei de aldosteron, mai mic decât dacă s-ar injecta angiotensina singură şi în aceeaşi doză. Această observaţie atrage atenţia asupra posibilului rol modulator al concentraţiei locale a sodiului privind efectul angiotensinei II. Supraîncărcarea cu sodiu nu modifică numai acţiunea Ang II întrucât în acelaşi timp se produc variaţii ale nivelului plasmatic al K şi implicit în celulele cortexului suprarenal. De altfel, rolul potasiului în biosinteza aldosteronului este mult mai complex decât interpretarea implicaţiilor directe ale nivelului său plasmatic asupra zonei glomerulare. Hipokaliemia la pacienţii cu hiperaldosteronism primar poate aduce secreţia aldosteronului la valori normale [68], în timp ce la subiecţi normali în depleţie sodată scăderea producţiei de aldosteron în urma spolierii de potasiu nu este aşa marcată [69]. Aceste diferenţe ar putea fi atribuite stimulării producţiei de renină, deşi Blair–West şi colab. [70] au arătat că hipokaliemia severă poate aboli răspunsul cortexului suprarenal faţă de depleţia soldată chiar dacă nivelul plasmatic al angiotensinei este foarte ridicat.

Este cunoscut faptul că secreţia de aldosteron la animalele normale se datoreşte biosintezei sale continue aşa încât creşterea ratei sale de eliberare trebuie să fie interpretată ca o creştere a producţiei glandulare. De altfel, perfuzia de Ang II, KCl şi ACTH în sângele arterei suprarenale, la oaie sau câine, determină creşterea secreţiei de aldosteron doar după 1 minut [17, 21] şi atinge un maximum după 9–15 minute. Acest răspuns rapid, în ciuda faptului că hormonul se găseşte în mică cantitate sub formă de rezerve suprarenale, se poate explica prin faptul că echipamentul enzimatic necesar sintezei este prezent, fiind capabil să elaboreze mari cantităţi de aldosteron din precursorii iniţiali, cum ar fi colesterolul, întrucât locul comun de acţiune a celor trei stimuli este etapa colesterol–pregnenolon.

Scanned with OKEN Scanner

Posibilitatea de răspuns la perfuzia continuă de angiotensină este variabilă. Suprarenala de om poate rămâne sensibilă la perfuzia continuă de angiotensină II timp de câteva zile [71]. La fel şi câinele poate să secrete cantităţi ridicate de aldosteron ca urmare a perfuziei de angiotensină timp de mai multe zile [22], în timp ce la animalele hipofizectomizate şi în depleţie sodată creşterea este tranzitorie [72].

Blair–West şi colab. [73] au obţinut o creştere a secreţiei de aldosteron ca urmare a perfuziei de angiotensină la oaie doar timp de opt ore şi din contră efecte inverse prin scăderea concentraţiei potasiului. Efecte tranzitorii, similare, au fost obţinute şi prin injectarea directă a angiotensinei în artera suprarenală în absenţa modificării potasiului plasmatic. La şobolan efectul de stimulare este mai persistent dacă se administrează doze mari de renină sau angiotensină, însă în aceste circumstanţe apare şi un fenomen de pierdere a sodiului [74, 75].

Angiotensina II sau potasiul în concentraţie ridicată nu sunt capabile să stimuleze producţia de aldosteron, *in vitro*, în absenţa ionilor de calciu [18], iar adăugarea ouabainei în mediu de incubare poate să reducă producţia de aldosteron [76] şi corticosteron [77]. Se reduce, de asemenea, şi răspunsul stimulator ca urmare a introducerii de potasiu ori ACTH, fără să modifice secreţia de corticosteron [18]. Aceste efecte ale ouabainei sugerează existenţa unor efecte directe asupra biosintezei aldosteronului ca urmare a alterării concentraţiei sodiului sau/şi a potasiului intracelular şi deci o modificare a proceselor excitatoare localizate în membrana celulară. Corelate cu studiile *in vivo* se pare că în cele din urmă toţi factorii de variaţie a secreţiei de aldosteron ar acţiona prin modificarea conţinutului în potasiu a celulelor suprarenale.

Un alt semn de întrebare apare şi atunci când se discută efectele depleţiei şi repleţiei sodate şi a modificării balanţei potasiului. În ceea ce priveşte acţiunea directă a electroliţilor se ştie că secreţia ridicată de aldosteron ca urmare a creşterii concentraţiei plasmatice a potasiului este rezultatul stimulării atât a etapelor iniţiale, cât şi a celor finale din procesul de biosinteză, în timp ce locul de acţiune a scăderii sodiului nu este cunoscut. Creşterea locală, moderată a concentraţiei sodiului sau reducerea concentraţiei potasiului, scad rapid secreţia ridicată de aldosteron la oaia în deficit sodat [18], sugerând că nivelul ionic extracelular sau rezultanta intracelulară poate determina o scădere a sintezei de aldosteron fără a se preciza dacă modificările ionice deprimă etapele iniţiale de stimulare sau inhibă ultimele trepte de biosinteză, de trecere a DOC în corticosteron şi ulterior aldosteron.

Încărcarea sodată reduce răspunsul aldosteronic la stimulare exogenă, efect ce ar putea fi interpretat ca o inhibiţie directă a creşterii locale a nivelului plasmatic [67]. Deficitul de potasiu, în experienţe *in vitro*,

Scanned with OKEN Scanner

face incapabilă suprarenala să producă aldosteron. Se pare că efectul nu este doar consecința hipokaliemiei locale întrucât creşterea potasiului nu restabileşte producția de aldosteron [18]. Este probabil ca efectul hipokaliemiei să apară datorită inhibiției unei etape după sinteza de DOC, în timp ce etapele inițiale să nu sufere modificări.

Ganong ajunge la părerea că sistemul renină-angiotensină acționează ca un hormon trofic la nivelul zonei glomerulate, concluzie care își poate găsi suportul în observațiile lui Kharailah [79] că perfuzia Ang II poate stimula sinteza de ADN, ARN şi proteine în mai multe țesuturi la cobai. Hipertrofia celulelor epiteliale ale canalelor salivare şi tubilor proximali renali la mamifere în depleție sodică cronică pare a fi similară cu hipertrofia glandelor salivare la oaia în deficit de sodiu ținută câteva zile în condiții experimentale [80, 81]. Modificările hipertrofice ale glandelor salivare sunt asociate cu creşterea sensibilității țesuturilor la acțiunea aldosteronului [55].

Analizând modelul biosintetic propus de Muller [18] la care se adaugă constatarea că aldosteronul se găseşte stocat în cantități reduse, se poate trage concluzia că secreția de aldosteron în cursul deficitului de sodiu se datoreşte stimulării etapei dintre colesterol şi pregnenolon, asigurând astfel provizii de substrat pentru diverşii factori stimulatori, cum ar fi angiotensina II sau potasiu, care facilitează etapa corticosteron – aldosteron.

Deficitul de sodiu determină scăderea de volum a lichidului intra- şi extracelular. În aceste condiții, deşi presiunea sanguină scade doar puțin, chiar în condițiile unui deficit sever de sodiu are loc stimularea baroreceptorilor din arteriola aferentă renală determinând eliberarea de renină [50, 82, 83].

Sistemul renină-angiotensină satisface un număr de criterii pentru a fi acceptat ca factor umoral major cu rol în stimularea biosintezei de aldosteron în cursul depleției sodate.

Dintre acestea reținem:

1. perfuzia de angiotensină II stimulează secreția de aldosteron la mai multe specii;
2. angiotensina II stimulează secreția de aldosteron prin acțiune directă asupra corticosuprarenalei fără a influența semnificativ secreția de glicocorticoizi;
3. există o strânsă corelație între concentrația sau activitatea reninei plasmatice, a angiotensinemiei, secreției de aldosteron şi deficitul de sodiu în experimentele de depleție sodată [80, 81, 84, 85, 86];
4. binefrectomia la animalele hipofizectomizate în condiții de depleție sodată poate reduce nivelul ridicat al secreției de aldosteron sub nivelul de bază. La câine scăderea este completă după aproximativ o oră [87], iar la oaie după 6 – 12 ore de la nefrectomie [54, 55, 56].

Scanned with OKEN Scanner

La oameni normali, mici variații ale balanței sodate modifică nivelul aldosteronului plasmatic. La astfel de subiecți dacă se reduce drastic aportul de sodiu (de la 200 la 10 mmol/24 ore) creşterea aldosteronemiei este precedată de creşterea nivelului ARP şi Ang II plasmatice. Din acest punct de vedere este bine stabilit că variațiile secreției de aldosteron ca răspuns la administrarea de Ang II la subiecți cu deficit sodat contrastează cu reducerea reactivității vasculare la peptidul respectiv.

Datele privind sensibilitatea zonei glomerulate la variațiile Ang II circulante la subiecții cu deficit sodat sunt greu de interpretat mai ales dacă luăm în considerație şi constatările că administrarea de inhibitori ai enzimei de conversie a Ang I în Ang II sau de blocanți specifici ai receptorilor angiotensinergici nu modifică hiperreactivitatea corticosuprarenalei.

Aceste observații conduc spre incriminarea mai degrabă a unor mecanisme intracelulare decât plasmalemal–receptoare ale Ang II în reglarea secreției de aldosteron la subiecții cu deficit sodat (figura 4.9.).

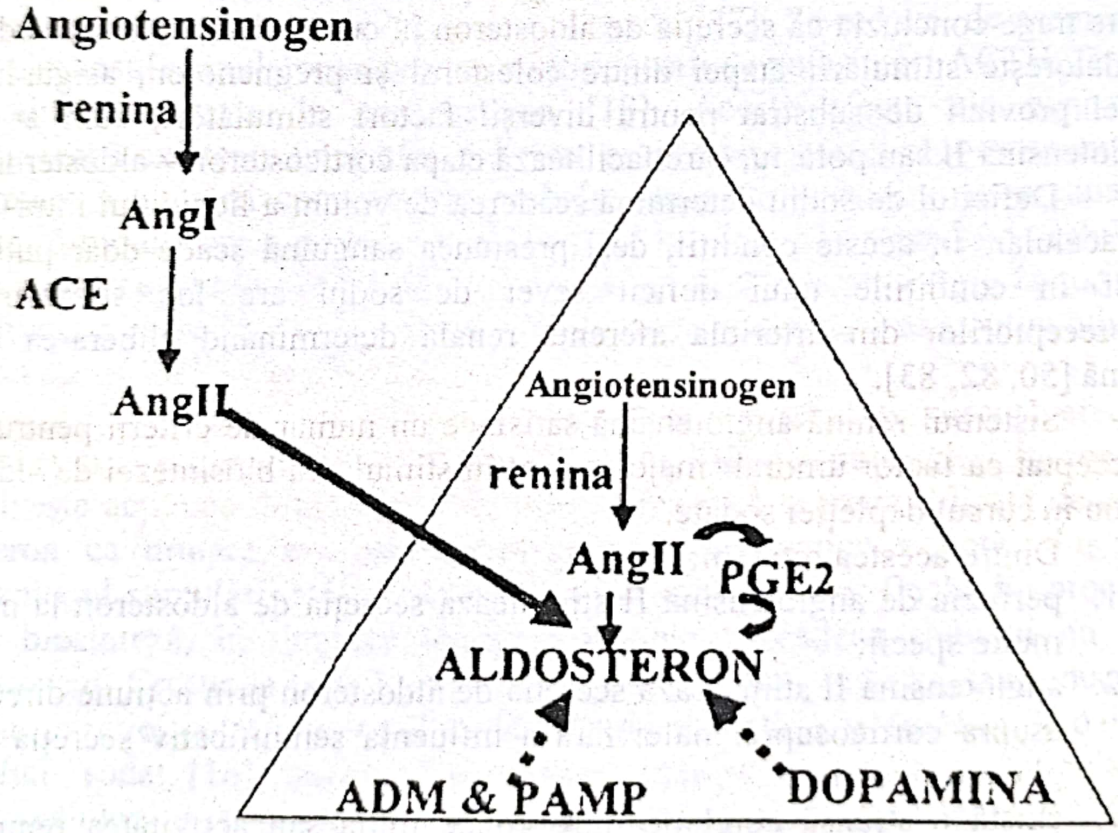


Figura 4.9. Mecanisme endocrine şi paracrine posibile cu rol în controlul secreției de aldosteron [modificată după 142]
- ACE – enzima de conversie Ang I -Ang II;
- ADM – adrenomedulină;- PAMP – proadrenomedulină;
- linie continuă - efect stimulator;
- linie întreruptă - efect inhibitor.

Scanned with OKEN Scanner

4.4.2. ALTE POSIBILITĂȚI DE STIMULARE HORMONALĂ A SECREȚIEI DE ALDOSTERON

Numeroşi alți factori hormonali pot influența activitatea celulelor din zona glomerulată a corticosuprarenalei. Astfel, în condiții fiziologice ACTH şi alte peptide derivate din proopiomelanocortina (POMC) pituitară exercită efecte stimulatoare minore asupra secreției de aldosteron. Secvența evenimentelor ce urmează impactului dintre aceste peptide şi celulele glandulare ar fi:

– activarea receptorilor specifici

↓

– activarea adenilatciclazei membranare

↓

– creşterea concentrației intracitoplasmatice de AMPc

↓

– stimularea etapelor inițiale şi finale ale biosintezei de aldosteron

Participarea ionului de calciu este absolut obligatorie, fapt relevat de blocarea efectelor stimulatoare ale ACTH – ului asupra secreției de aldosteron după administrarea inhibitorilor calmodulinici.

Acțiunea stimulatoare a ACTH –ului asupra secreției de aldosteron este tranzitorie spre deosebire de efectul său dominant asupra secreției de glucocorticoizi.

Vasopresina realizează un efect tranzitoriu de stimulare a secreției de aldosteron prin creşterea turnoverului inozitoltrifosfatului.

Eventualele implicații ale agoniştilor β-adrenergici, neuropeptidului Y, VIP, serotoninei etc. rămân a fi validate.

Secreția de aldosteron este modulată de unii electroliți. În această ordine de idei, concentrația plasmatică a ionului de potasiu acționează direct asupra celulelor din zona glomerulată a corticosuprarenalelor. Creşteri uşoare ale potasemiei sunt urmate de stimularea secreției de aldosteron în necesitatea organismului de menținere a homeostaziei kalemice întrucât acesta va stimula excreția excesului de K^+. Fenomene inverse se derulează în condițiile scăderii concentrației plasmatice a K^+.

Efectul stimulator al ionului de potasiu s-ar realiza ca urmare a proceselor de depolarizare membranară a celulelor zonei glomerulate cu deschiderea canalelor voltaj – dependente de Ca^{2+} şi creşterea influxului de

Scanned with OKEN Scanner

Ca^{2+}. Ionul de calciu poate fi eliberat şi din depozitele intracelulare, producându-se creşterea concentraţiei sale în citozol urmată de activarea conversiei colesterolului în pregnenolon şi a 18 – hidroxilazei care asigură transformarea corticosteronului în aldosteron.

O serie de factori hormonali inhibă secreţia de aldosteron. Între aceştia dopamina, ANF şi somatostatinul sunt mai frecvent discutaţi. În timp ce dopamina pare a exercita un efect inhibitor direct asupra secreţiei de aldosteron, ANF ar interfera cu metabolismului Ca^{2+} prin mecanism GMPc –dependent. Factorul natriuretic atrial reduce nu numai capacitatea steroidogenetică, ci şi greutatea zonei glomerulate a glandei corticosuprarenale.

Majoritatea factorilor care interferează cu secreţia de aldosteron au în realitate rol modulator asupra interrelaţiilor care există între SRA şi aldosteron.

Modificările *potasemiei* influenţează secreţia de aldosteron Ang II – indusă. Multiplele interrelaţii între K^+ şi Ang II în steroidogeneză sunt confirmate de mecanismul comun (modificări enzimatice intracelulare) al celor doi parteneri la nivelul celulelor din zona glomerulată [88].

Adrenocorticotrop hormonul are în general acţiune trofică de susţinere a steroidogenezei în multiple etape ale lanţului de biosinteză. De aceea, nu este surprinzător faptul că în absenţa ACTH răspunsul zonei glomerulate a corticosuprarenalei este redus şi în cazul variaţiilor angiotensinemiei. La specia umană cu deficit de ACTH, depleţia sodată nu modifică secreţia de aldosteron, în schimb aldosteronemia variază proporţional cu nivelul Ang II plasmatice. De asemenea, reducerea nivelului angiotensinemiei înlătură variaţiile de secreţie ale aldosteronului ca urmare a administrării de ACTH [88].

Dopamina, cunoscută ca inhibitor cu acţiune directă asupra celulelor zonei glomerulate prezintă acelaşi efect şi în cazul răspunsului Ang II – indus [89].

Factorul natriuretic atrial ca şi peptidul natriuretic cerebral inhibă secreţia de aldosteron în culturi celulare din zona glomerulată a corticosuprarenalei. S-a observat, de asemenea, că ANF diminuă şi răspunsul aldosterono–eliberator ca urmare a administrării de Ang II, ACTH şi potasiu [90]. Cuneo şi colab. au publicat date obţinute pe subiecţi normali la care perfuzia pentru scurtă durată de ANF (7 ng/kg/min.) a produs scăderea semnificativă a răspunsului aldosteron – Ang II, doză - dependent [91].

O etapă nouă în interpretarea interrelaţiilor dintre SRA şi aldosteron a fost deschisă de Mullrow în 1992 prin publicarea observaţiilor sale asupra prezenţei şi rolului reninei în fiziologia corticosuprarenalei [92]. Ulterior s-a precizat că la şobolan această glandă ocupă locul doi privind concentraţia

Scanned with OKEN Scanner

tisulară de renină [93] şi primul loc în ceea ce priveşte Ang II [94]. S-au identificat apoi şi celelalte componente ale SRA, iar prezenţa mARN pentru renină şi angiotensinogen în celulele zonei glomerulate au validat supoziţiile anterioare legate de existenţa unui SRA local [92, 95, 96, 97, 98, 99].

Modificări ale echilibrului electrolitic modifică statusul reninic intracorticosuprarenal. Astfel, regimul sărac în sodiu sau bogat în potasiu creşte conţinutul în mARN reninic în corticosuprarenală, în timp ce încărcarea sodată îl diminuă [100,101]. Răspunsul cel mai puternic al zonei glomerulate apare după nefrectomie probabil ca urmare a creşterii nivelului plasmatic al ACTH şi K la animalele respective [100, 102, 103].

Sistemul renină-angiotensină din zona glomerulată are profunde implicaţii în stimularea sintezei şi secreţiei de aldosteron [98, 100, 104, 105, 106, 107].

S-au emis mai multe ipoteze care să explice mecanismul de acţiune a SRA local asupra sintezei şi secreţiei de aldosteron:

– renina intracelulară catalizează formarea de Ang I din angiotensinogenul intracelular. Angiotensina I este transformată în angiotensină II de către enzima de conversie prezentă tot intracelular, iar Ang II astfel formată acţionează asupra nucleului sau mitocondriei influenţând secreţia de aldosteron;

– o altă posibilitate este de acţiune paracrină. Angiotensina II formată intracelular ar fi eliberată în sinusoidele glandulare de unde ar putea aborda receptorii specifici din membrana celulelor vecine;

– o ultimă supoziţie consideră că renina secretată de celulele corticosuprarenale ajunge în sânge, iniţiază lanţul de reacţii enzimatice formatoare de Ang II care se va cupla specific cu receptorii de tip AT_1 prezenţi în membrana celulelor zonei glomerulate.

Datele prezentate anterior confirmă o dată în plus că în organism activează un "sistem renină - angiotensină - aldosteron" cu profunde rădăcini filogenetice. Acest sistem funcţionează prin mecanism de feedback (figura 4.11.).

Oricare ar fi circumstanţa de generare a reninei, aceasta induce formarea de angiotensine biologic active care în contact cu receptorii specifici din membrana celulelor zonei glomerulate stimulează secreţia de aldosteron. Existenţa acestui mecanism de feedback a fost probată şi de faptul că în hiperaldosteronismul secundar outputul glucocorticoizilor este normal, iar aldosteronemia crescută nu este decât rezultatul concentraţiei crescute a angiotensinei II [28].

Scanned with OKEN Scanner

Noțiunea de sistem renină-angiotensină-aldosteron are profunde implicații în practica medicală, așa încât măsurarea reninei și aldosteronului sunt astăzi folosite în precizarea diagnosticului a numeroase afecțiuni.

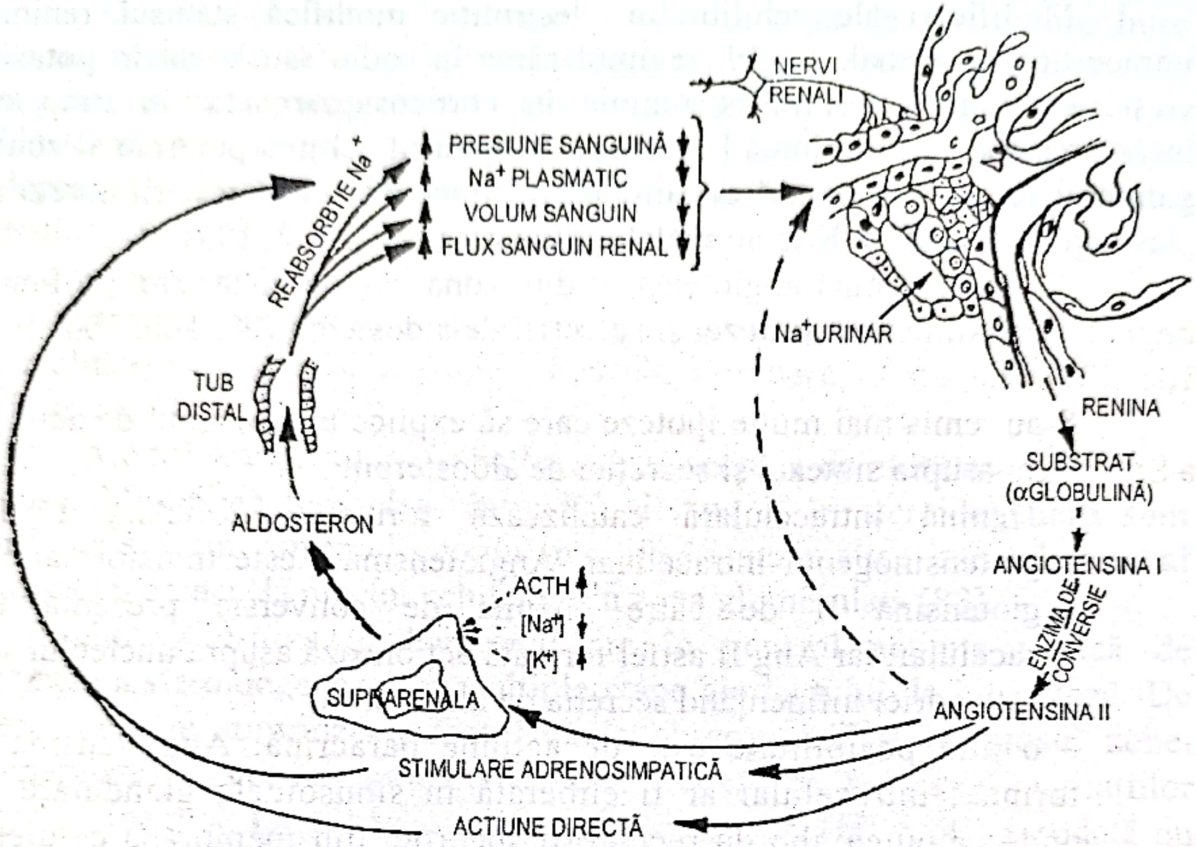


Figura 4.11. Mecanismul de feedback în cadrul sistemului renină-angiotensină-aldosteron.

4.5. TULBURĂRI ALE MECANISMULUI DE FUNCȚIONARE A SISTEMULUI RENINĂ - ANGIOTENSINĂ- ALDOSTERON

Dacă în condiții normale nivelul constant al aldosteronului și reninei plasmatice sunt menținute prin mecanisme de feedback, numeroase sunt cauzele care perturbă anumite verigi ale sistemului determinând apariția unor stări patologice caracteristice.

În funcție de simptomul care predomină, tulburările mecanismului de autoreglare a sistemului renină-angiotensină-aldosteron ar putea fi privite astfel:

I. Simptom principal – hipertensiune cu alcaloză metabolică hipokalemică

Scanned with OKEN Scanner

1. Hiperaldosteronism primar (Sindrom Conn)
2. Hiperaldosteronism secundar:
   a. ischemie renală:
      - unilaterală - stenoza arterei renale;
      - bilaterală - nefroangioscleroză malignă;
   b. nefropatie cu eliminare crescută de săruri de sodiu;
   c. terapie saliuretică în hipertensiunea arterială esențială.

II. Simptom principal – hipotensiune (normotensiune) cu alcaloză metabolică hipokalemică;
   a. sindrom Bartter
   b. sindrom pseudo-Bartter

III. Simptom principal – retenție de sodiu cu expansiunea spațiului extracelular
   a. insuficiență cardiacă
   b. ciroză hepatică decompensată
   c. sindrom nefrotic
   d. edem ciclic

4.5.1. HIPERALDOSTERONISMUL PRIMAR

Descrierea sindromului de hiperaldosteronism primar şi a tratamentului său prin îndepărtarea tumorii corticosuprarenale producătoare de aldosteron a fost urmată doar la câteva luni de izolarea şi identificarea hormonului în cauză. În acea perioadă cunoştinţele privind mecanismele fiziologice ce intervin în controlul secreției de aldosteron erau foarte restrânse. Se ştia că pentru conservarea sodiului trebuie stimulată producția unui steroid independent de axul hipofizo – corticosuprarenalian, că injectarea de DOC mimează modificările induse de balanța sodată deficitară, iar pentru a avea indicații asupra activității steroidului endogen se utiliza determinarea concentrației sodiului în transpirație.

Odată cu descrierea elementelor sistemului renină-angiotensină - aldosteron s-au putut explica aceste constatări. Dacă se ia în considerație concepția privind mecanismul de autoreglare al sistemului renină-angiotensină - aldosteron, atunci hiperaldosteronismul ca urmare a tumorii corticosuprarenale ar trebui să se însoțească de un nivel scăzut al reninei, respectiv angiotensinei II plasmatice. În condițiile unui hiperaldosteronism secundar ca urmare a unei afecțiuni renale nivelul angiotensinei II ar trebui să fie crescut. Rezultă că în condițiile hiperaldosteronismului primar activitatea reninei plasmatice prezintă valori sub nivelul normal. Această constatare reprezintă unul din criteriile pe baza căruia se susține diagnosticul diferențial dintre hiperaldosteronismul primar şi secundar.

Scanned with OKEN Scanner

4.5.2. HIPERALDOSTERONISMUL PRIMAR HIPOKALEMIC

Încă de la începutul utilizării testului de determinare a ARP, când metodele erau mai puțin sensibile, în condițiile unei hipokalemii severe nivelul reninei plasmatice era sub pragul de detectare. Astfel a apărut necesitatea utilizării tehnicilor de stimulare a secreției de renină pentru ca aceasta să poată fi pusă în evidență. Introducerea metodelor radioimunologice, capabile să deceleze mici cantități de angiotensină II, a dat posibilitatea să se evidențieze renina la orice pacient cu hiperaldosteronism primar. S-a putut astfel observa că poziția ortostatică este stimulul cel mai eficient pentru secreția de renină în cursul hiperaldosteronismului primar. Nivelul bazal al ARP este foarte mult scăzut la pacienții cu hiperaldosteronism primar în comparație cu subiecți anefrici bilaterali. Concentrația reninei plasmatice poate fi însă ridicată dacă acești subiecți purtători de tumoră suprarenală sunt supuși unei natriureze puternice.

În condițiile în care acești subiecți cu hiperaldosteronism hipokalemic și cu un nivel foarte scăzut a ARP primesc hidroclorotiazidă (100 mg), supliment de potasiu și doar 10 mEq de sodiu/24 h timp de 3 zile, nivelul plasmatic al reninei crește, atingând valori foarte apropiate de cele observate la subiecții normali menținuți în condiții similare.

Extirparea chirurgicală a tumorii suprarenale determină binecunoscuta scădere a secreției de aldosteron la valori mai joase decât normal chiar în primele 24 ore. Acest efect este urmat de natriureză și în consecință creșterea ARP. Revenirea ARP la valori normale este diferită de la pacient la pacient și aceasta în funcție probabil de gradul inițial de deprimarea secreției și desigur de ingestia postoperatorie de sodiu. La subiecți care au primit un regim hiposodat (40 mEq/zi) nivelul ARP a revenit la valorile normale mai rapid. Aceste modificări în activitatea sistemului renină-angiotensină-aldosteron asociate cu un nivel normal al 17–hidroxisteroizilor urinari după tratamentul chirurgical indică:

1. sursa de secreție excesivă a aldosteronului a fost îndepărtată;
2. deprimarea producției de aldosteron la nivelul țesutului corticosuprarenalian normal a fost ridicată;
3. activitatea sistemului renină-angiotensină-aldosteron începe să revină lent către valorile normale.

4.5.3. HIPERALDOSTERONISMUL PRIMAR NORMOKALEMIC

S-a constatat că la pacienții hipertensivi cu hipokalemie și adenom de corticosuprarenală în prezența unei supraproducții de aldosteron, scăderea nivelului reninei plasmatice reprezintă un semn cu valoare mult

Scanned with OKEN Scanner

mai mare decât nivelul potasiului seric. S-au descris numeroase cazuri de hiperaldosteronism primar cu potasiu seric normal sau la valoare limită, cu mulți ani înaintea instalării hipokalemiei. Astfel, în funcție de posibilitățile de investigare, în istoricul stabilirii diagnosticului de hiperaldosteronism primar se cunosc câteva etape (tabelul 4.2.).

Tabelul 4.2. Criterii de susținere a diagnosticului de hiperaldosteronism primar

A.	1954 – 1964	Hipokalemie (sub 3 mEq/l) Hipersecreție de aldosteron 17 – hidroxi și 17 – cetosteroizi – normali Absența hiponatremiei Absența edemului papilar Arteriogramă renală normală
B.	1964 – 1965	Activitatea reninei plasmatice scăzută Hipokalemie (sub 3,8 mEq/l) Hipersecreție de aldosteron 17 – hidroxi și 17 – cetosteroizii – normali
C.	1965	Activitatea reninei plasmatice scăzută Hipersecreție de aldosteron 17 – hidroxi și 17 – cetosteroizi – normali

4.5.4. HIPERALDOSTERONISMUL IDIOPATIC

S-au descris anumite cazuri de hipertensiune care întruneau toate criteriile pentru diagnosticul de hiperaldosteronism primar hipokalemic, dar care prezentau hiperplazie corticosuprarenală difuză. Întrucât activitatea reninei plasmatice în toate aceste cazuri este scăzută s-a sugerat că forma respectivă de hiperplazie corticosuprarenală este cauzată de un factor necunoscut. În lipsa cunoașterii factorului etiologic, ea a fost catalogată sub numele de „hiperaldosteronism idiopatic" care se confundă cu „hiperaldosteronismul pseudoprimar" descris anterior.

Există o asemănare profundă între manifestările clinice de la pacienții cu hiperplazie difuză și adenom unic. Diferențele cantitative mai mult decât cele calitative permit însă includerea acestui tip de hiperaldosteronism din cadrul afecțiunii neadenomatoase cu ARP scăzută în cadrul hiperaldosteronismului pseudoprimar. Tratamentul cortizonic sau suprarenalectomia bilaterală în cazurile respective nu vindecă hipertensiunea deși dezechilibrele metabolice se remit. Din grupul de pacienți catalogați cu hiperaldosteronism pseudoprimar se desprind unii în care tratamentul cu dexametazonă corectează prompt hipertensiunea, hiperaldosteronismul și hipokalemia. Aceștia prezintă o hiperplazie nodulară, mai dificil evidențiabilă preoperator.

Scanned with OKEN Scanner

În sfârşit, în cadrul aceleiaşi stări de hiperaldosteronism fără adenom, sunt incluşi pacienţi la care afectarea rinichiului, hiperreninemia şi hipertensiunea preced dezvoltarea procesului corticosuprarenalian. Este deci vorba de un aldosteronism terţiar întrucât stimulul pentru hipersecreţia de aldosteron apare probabil în rinichi fiind reprezentat de renină sau alt agent. La un anumit interval de timp glanda corticosuprarenală devine independentă de acest stimul, determinând scăderea ARP, hipokalemie şi alcaloză, circumstanţe care menţin starea de hipertensiune.

Făcându-se o sinteză a datelor din literatură s-a atras atenţia asupra faptului că nivelul uşor scăzut al ARP ar putea fi un criteriu care să îndrepte atenţia asupra existenţei unei hiperplazii difuze a corticosuprarenalei.

Există forme rare, familiale de hiperplazie a corticosuprarenalei, în aceste forme nivelul scăzut al ARP reprezintă un criteriu satisfăcător pentru precizarea diagnosticului de hiperaldosteronism primar. La aceste cazuri administrarea de dexametazonă (1–2mg zilnic) aduce la normal atât aldosteronul, cât şi ARP şi tensiunea arterială.

Altă formă, destul de rară, de hiperactivitate corticosuprarenală asociată cu hipertensiune arterială şi hipokalemie este cauzată probabil de o deficienţă a etapei de 17 – hidroxilare în lanţul de biosinteză al aldosteronului. În această formă de hiperplazie a corticosuprarenalei se întâlneşte mai ales hipoaldosteronism, creşterea secreţiei de DOC şi corticosteron alături de hipogonadism. Aceste manifestări apar ca urmare a unui deficit şi în sinteza hormonilor sexuali.

Pentru precizarea diagnosticului de hiperaldosteronism primar este necesar ca alături de o supraproducţie de aldosteron să se evidenţieze o scădere a ARP şi o secreţie normală de cortizol. După introducerea metodelor radioimunologice de apreciere a ARP s-a putut constata că printre bolnavii catalogaţi ca având adenom corticosuprarenalian, aproximativ 15 % ar prezenta o hiperplazie difuză a corticosuprarenalei , însoţită de valori mai ridicate ale reninei plasmatice.

4.5.5. HIPERALDOSTERONISMUL SECUNDAR

Noţiunea de hiperaldosteronism secundar cuprinde totalitatea aspectelor fiziopatologice care se însoţesc de o secreţie crescută de aldosteron ca urmare a stimulării zonei glomerulate de către unul sau mai mulţi factori extracorticosuprarenali. Este dificil uneori de stabilit relaţia dintre hiperaldosteronism şi factorul extrarenal major care l-a indus. Totuşi, sistemul renină-angiotensină este implicat în marea majoritate a cazurilor ca mecanism cauzal în creşterea secreţiei de aldosteron.

Scanned with OKEN Scanner

Există unele stări de hiperaldosteronism în care sunt implicați factori încă neidentificați, desigur alții decât sistemul renină - angiotensină și care sunt determinate de hipersecreția glucocorticoizilor.

Ceea ce caracterizează hiperaldosteronismul secundar este faptul că excesul de hormon are influență redusă asupra factorului inițial de stimulare a secreției acestui mineralocorticoid sau efectele sale sunt modificate de condițiile clinice și experimentele instalate.

Una din formele de hiperaldosteronism secundar mai des discutată în literatura de specialitate, în care este implicată perturbarea activității sistemului renină-angiotensină-aldosteron o constituie prezența hipertensiunii arteriale.

Principalele sindroame de hiperaldosteronism secundar care nu se însoțesc de creşterea presiunii arteriale sunt:

4.5.5.1. SINDROMUL BARTTER

Este caracterizat prin hiperplazia complexului juxtaglomerular și alcaloză hipokalemică în care hiperaldosteronismul și hiperreninemia apar fără a fi însoțite de edeme și hipertensiune. Din punct de vedere clinic se remarcă starea de adinamie, polidipsie, nanism și dezvoltare psihică precară.

Explicația patogeniei acestei afecțiuni rămâne încă necunoscută deşi au fost incriminați numeroși factori. Reținem atenția asupra supoziției care consideră că stimularea sistemului renină-angiotensină-aldosteron în aceste circumstanțe ar fi rezultatul compensării sensibilității scăzute, înăscute, a vaselor la angiotensină. Alte explicații ar fi reprezentate de secreția relativ autonomă de renină sau pierderea excesivă a sodiului la nivelul tubului proximal.

Perturbarea reabsorbției sodiului la nivel proximal este factor declanşator al hipersecreției de renină și aldosteron ca urmare a augmentării schimburilor distale ale sodiului pentru ionii de potasiu și hidrogen. Introducerea concepției de "șunt glomerul – tub distal" sugerează că în anumite cazuri tubul proximal poate fi ocolit cu acelaşi rezultat funcțional. Deşi în majoritatea cazurilor bilanțul sodat rămâne conservat, uneori se observă o pierdere a acestui electrolit.

Hipokalemia ce însoțește sindromul Bartter nu este însă rezultatul excesului de aldosteron întrucât nivelul scăzut al potasiului poate să persiste și după corectarea hiperaldosteronismului prin suprarenalectomie subtotală.

Câteva aspecte particulare se alătură celorlalte perturbări ce diferențiază sindromul Bartter de hiperaldosteronismul primar. Astfel, în timp ce restricția de sodiu poate să corecteze hipokalemia la subiecții cu hiperaldosteronism primar, la pacienții cu sindrom Bartter, la care necesarul

Scanned with OKEN Scanner

de K^+ este crescut, eficacitatea restricției este redusă. De asemenea, în timp ce spironolactona poate fi eficace în studiile de scurtă durată, după o lungă perioadă de tratament apare fenomenul de „escape".

4.5.5.2. PSEUDOSINDROMUL BARTTER

Este caracterizat prin apariția hipersecreției de renină și hiperaldosteronism secundar în cursul unor tulburări gastrointestinale sau renale. Cauza principală rezidă în subnutriție cronică, vărsături repetate, abuz de diuretice. În istoricul acestor bolnavi s-au observat stări conflictuale psihice.

Diagnosticul diferențial între sindromul și pseudosindroamele Bartter este relativ ușor întrucât primul se manifestă la vârste tinere, iar clearance-ul renal al potasiului este crescut.

4.5.5.3. HIPERALDOSTERONISM SECUNDAR UNOR STĂRI PATOLOGICE ALE RINICHIULUI

4.5.5.3.1. Insuficiența renală cronică

La acești pacienți, aldosteronul poate să aibă valori uneori sub nivelul normal alteori deasupra acestuia, dar există încă puține studii care să discute relația directă între modificările respective și secreția de renină. Creșterea secreției de aldosteron a fost observată la pacienți cu insuficiență renală cronică azotemică. De fapt, la aproximativ jumătate din pacienții cu insuficiență renală cronică ARP este crescută înaintea dializei, nivel ce crește și mai mult după actul terapeutic respectiv. Persistența unor valori ridicate ale presiunii arteriale după hemodializă la unii pacienți este rezultatul creșterii marcate a nivelului ARP. Nu este clar dacă la acești pacienți este prezent sau nu sindromul de hiperaldosteronism.

Perturbări ale secreției de aldosteron au fost puse în evidență și la bolnavi cu insuficiență renală cronică, la care se produce o accentuare a hiperkalemiei. S-a arătat că nu este obligatoriu ca nivelul reninei plasmatice să crească în prezența fenomenelor de hipoaldosteronism.

4.5.5.3.2. Sindromul nefrotic

Prezența aldosteronului în urina unor copii cu sindrom nefrotic se poate însoți de creșterea secreției hormonului respectiv și de valorile ridicate ale ARP. Spre deosebire de subiecții normali și hipertensivi care scapă de sub efectul de retenție sodată ca urmare a excesului de aldosteron, cei cu nefroză sunt refractari, iar fenomenul de "escape" nu se observă. Edemul prezent la acești subiecți este rezultatul probabil al scăderii albuminelor plasmatice și creșterii fluxului lichidian din compartimentul intravascular în interstițiu.

Scanned with OKEN Scanner

4.5.5.3.3. Tubulopatia acidotică

Hiperaldosteronismul întânit la bolnavii cu tubulopatie însoțită de acidoză poate fi redus prin corecția susținută a acidozei și întârzierea pierderii de potasiu prin urină. S-a observat însă că în ciuda corecției continue a acidozei, a aportului normal de sodiu ca și a menținerii constante a volumului plasmatic, hiperaldosteronismul și potasemia scăzută persistă în majoritatea cazurilor.

Subliniind câteva din elementele similare între tubulopatia acidotică și sindromul Bartter s-a sugerat că în ambele afecțiuni pierderea sodiului la nivelul tubului proximal ar constitui cauza hiperaldosteronismului și a creșterii schimbului de sodiu pentru potasiu la nivel distal. La acești bolnavi cu tubulopatie acidotică s-a observat o creștere neconcordantă a nivelului ARP față de balanța sodiului, fără însă a putea explica mecanismul prin care apare atât hiperreninemia, cât și hiperaldosteronismul. Este posibil ca această stare de hiperaldosteronism cronic să fie susținută de necesitatea continuă de suplimentare a potasiului sau să fie o formă de hiperaldosteronism terțiar ca rezultat al depleției sodate prelungite dinaintea instituirii terapiei.

4.5.5.4. HIPERALDOSTERONISMUL SECUNDAR SARCINII

În timpul sarcinii apar fenomene de hiperaldosteronism care se dezvoltă din plin în cursul trimestrului III. Hiperaldosteronismul este, cel mai probabil, rezultatul creșterii producției de renină care apare în mod obișnuit în timpul sarcinii. Deși secreția excesivă de aldosteron este asociată cu o balanță pozitivă a sodiului, apare doar o ușoară depleție potasică. Acest fenomen este rezultat al hiperproducției de progesteron care inhibă efectul de scădere a kalemiei produs de aldosteron, fără însă să se interfereze cu acțiunea sa de reținere a sodiului. Nu se cunoaște de ce creșterea obișnuită a aldosteronemiei din cursul sarcinii nu este însoțită de apariția hipertensiunii și de o depleție potasică profundă.

4.5.5.5. HIPERALDOSTERONISMUL SECUNDAR TRATAMENTULUI CU ESTROGENI

Numeroși cercetători au semnalat apariția frecventă a hipertensiunii arteriale la femeile care utilizează estrogeni ca mijloc anticoncepțional, la pacienții cu osteoporoză, cancer de prostată și sân cărora li se administrează acești hormoni. În acest context, s-a demonstrat că după începerea tratamentului estrogenic, cu regularitate ARP se dublează, iar concentrația substratului circulant al reninei crește de trei până la cinci ori față de nivelul bazal. Ulterior, datorită acestui nivel crescut al substratului, renina

Scanned with OKEN Scanner

plasmatică scade, întrucât ea se epuizează prin generarea Ang II. În cursul tratamentului cu estrogeni s-a remarcat aspectul în oglindă al concentrației reninei plasmatice față de cel al angiotensinei II.

În aproape toate circumstanțele de terapie estrogenică apariția hiperaldósteronismului este secundară creşterii producției de angiotensină II. În favoarea apariției secundare a hiperaldosteronismului pledează şi inhibiția promptă a producției de aldosteron de către DOCA.

4.5.5.6. HIPERALDOSTERONISMUL SECUNDAR UNEI TULBURĂRI ÎN SECREȚIA DE ACTH

Se cunoaşte faptul că participarea hormonului hipofizar ACTH în reglarea fiziologică a secreției de aldosteron comportă multe controverse şi incertitudini. Este cunoscut faptul că ACTH-ul administrat în doze mari poate stimula producția de aldosteron. Totuşi, adminsitrarea continuă de ACTH nu mai este însoțită de menținerea nivelului inițial ridicat al aldosteronului, în timp ce alți corticosteroizi sunt secretați în aceeaşi cantitate crescută. În aceste condiții nivelul aldosteronului revine la valorile de bază în mod obişnuit după 3 zile de cură.

Un alt fapt interesant apare atunci când se administrează ACTH discontinuu. În acest caz, nivelul aldosteronemiei scade sub valorile normale pentru o perioadă de aproximativ o săptămână. Evoluția în două etape a secreției de aldosteron (creştere inițială şi scădere ulterioară) apare în cazul respectiv atât la omul normal (supus unui regim cu restricție sodată sau normosodic), dar şi la bolnavii cu hiperaldosteronism primar. Este puțin probabil ca acest răspuns să fie rezultatul scăderii reninei. Rolul ACTH–ului în producția de renină nu este incomplet elucidată deşi s-a demonstrat că nivelul ARP este neschimbat la pacienții care primesc ACTH exogen. Ar fi posibil ca ACTH-ul să creeze acumularea în suprarenale a precursorilor aldosteronului realizând o inhibiție a substratului. Acest mod de interpretare este sugerat şi de observațiile făcute în urma utilizării de corticosteron, cortizol sau desoxicorticosteron care induc o inhibare a producției de aldosteron *in vitro*.

În sindromul Cushing indus de hiperplazia corticosuprarenalei, nivelul aldosteronului se menține în limitele normalului. În sindroamele în care doar ACTH-ul are un nivel ridicat, mineralocorticoidul în exces este mai mult desoxicorticosteronul decât aldosteronul, iar producția acestuia din urmă este normală sau redusă.

Deşi supraproducția continuă de ACTH nu afectează semnificativ nivelul aldosteronemiei, pot să apară cazuri de hiperaldosteronism trecător în situații acute de traume sau stres.

Scanned with OKEN Scanner

4.5.5.7. HIPERALDOSTERONISMUL SECUNDAR TULBURĂRILOR POTASEMIEI

Ionul de potasiu reprezintă unul din stimulii incriminaţi pentru producţia de aldosteron. Limitele de variaţie ale concentraţiei sale plasmatice sunt incapabile să determine alterări substanţiale ale nivelului aldosteronului circulant, iar efectele sale par să fie mai degrabă directe decât mediate prin orice alt mecanism. Este necesar să se sublinieze independenţa totală a efectelor potasiului de acelea ale sistemului renină - angiotensină. Încărcarea cu potasiu creşte producţia de aldosteron şi acesta scade ARP, iar spolierea organismului de ionul respectiv creşte ARP şi scade producţia de aldosteron.

În cele mai multe cazuri de hipokalemie cronică şi în absenţa oricărui fenomen de insuficienţă renală, secreţia de aldosteron este redusă sau absentă aşa cum se întâlneşte în boala Addison. Modificarea secreţiei de aldosteron, secundar perturbării reninei, apare în acest context mai rar. La aceşti pacienţi, ARP şi concentraţia reninei plasmatice sunt extrem de scăzute şi nu se modifică la niciunul din stimulii clasici cunoscuţi, decât numai după ce se realizează reducerea concentraţiei potasiului seric la nivelul de bază.

4.5.5.8. INSUFICIENŢA CARDIACĂ CONGESTIVĂ

În acest sindrom nivelul absolut al debitului cardiac poate fi scăzut (insuficienţa cardiacă clasică) sau ridicat deasupra indicelui cardiac normal (3,2 l/min/m^2) şi totuşi perfuzia tisulară să fie inadecvată funcţionării în condiţii normale a ţesuturilor şi organelor. Alteori se observă îndeosebi o reducere marcată a fluxului sanguin renal. Dacă insuficienţa cardiacă este uşoară, se instalează un sistem "open – loop" similar celui din constricţia venei cave care determină o creştere a eliberării de renină. În momentul în care mecanismele compensatoare se instalează, factorii declanşatori ai secreţiei crescute de renină încetează să se mai manifeste şi secreţia de renină scade ajungând chiar la valorile bazale. În aceste circumstanţe, aldosteronul plasmatic prezintă valori ridicate doar când insuficienţa cardiacă este uşoară sau moderată ca rezultat doar al scăderii ratei sale de inactivare la nivel hepatic. Aşadar, se poate trage concluzia că, în condiţiile insuficienţei cardiace congestive sistemul renină-angiotensină-aldosteron este activat în grade diferite, în strânsă dependenţă cu severitatea afecţiunii.

4.5.5.9. ACTIVITATEA SISTEMULUI RENINĂ-ANGIOTENSINĂ-ALDOSTERON ÎN CIROZA HEPATICĂ

Tulburările hemodinamice care apar în cursul cirozei hepatice au ca urmare o scădere a fluxului sanguin renal şi deci a filtrării glomerulare. În aceste condiţii atât receptorii vasculari, cât şi cei situaţi la nivelul maculei

Scanned with OKEN Scanner

densa sunt stimulaţi determinând o creştere a secreţiei de renină. Sindromul de hiperaldosteronism care apare în aceste circumstanţe este deci secundar creşterii nivelului reninei plasmatice şi are drept rezultat o retenţie sporită de apă şi săruri minerale la nivelul rinichiului, determinând astfel expansiunea volumului de lichid extracelular. La augmentarea concentraţiei plasmatice a aldosteronului concură şi scăderea fluxului sanguin hepatic din cursul cirozei ce determină scăderea ratei de metabolizare a hormonului respectiv.

Exaltarea activităţii sistemului renină-angiotensină este mai evidentă în stadiul de decompensare edematoasă ascitică a cirozei hepatice. În această perioadă, deşi retenţia de apă şi săruri minerale la nivel renal continuă, expansiunea spaţiului extracelular nu are repercursiuni asupra volumului sanguin întrucât lichidul în exces se distribuie mai degrabă sub forma ascitei şi edemelor. Cu toate că nivelul plasmatic al reninei şi aldosteronului este ridicat, ciroticii nu numai că nu fac hipertensiune arterială, ci manifestă chiar tendinţă la hipotensiune. Pentru a explica acest fenomen s-au emis ipoteze dintre care menţionăm:

a. sinteza unei cantităţi scăzute de substrat de către ficatul insuficient;
b. blocarea lanţului de transformări enzimatice între stadiul de Ang I – Ang II;
c. apariţia fenomenului de tahifilaxie;
d. reducerea răspunsului presor de către aldosteronul în exces;
e. hiporeactivitatea vasculară a ciroticului, condiţionată de prezenţa şunturilor şi a excesului de substanţe vasodilatatoare.

Observaţiile mai sus menţionate au creat premizele emiterii ipotezei că modificările ce survin în mecanismul interrelaţiilor din cadrul sistemului renină-angiotensină-aldosteron se realizează prin procese de feedback negativ.

Multitudinea de date clinice şi experimentale expuse în parte în cadrul acestui capitol scoate în evidenţă faptul că sistemul renină-angiotensină reprezintă unul din mecanismele principale care intervin în controlul secreţiei de aldosteron. Se remarcă, de asemenea, faptul că sistemul renină-angiotensină-aldosteron este prezent funcţional, în scara animală, de la vertebrate inferioare (amfibieni) şi până la mamifere. Acest sistem funcţionează pe principiul mecanismului de feedback negativ atât în cadrul proceselor homeostatice, cât şi în diversele afecţiuni în care este implicat.

4.6. MEDULOSUPRARENALA ŞI SISTEMUL RENINĂ-ANGIOTENSINĂ

Posibilitatea interrelaţiilor funcţionale între SRA şi zona medulară a suprarenalei a fost consemnată după ce s-a constatat că preparatele crude de angiotensină produc eliberarea de catecolamine.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste observaţii au rămas fără ecou o lungă perioadă de timp până ce Renson şi colab. au consemnat lipsa efectului de contracţie a membranei nictitante, la pisica cocainizată, indus de angiotensina II după administrarea blocanţilor α-adrenergici de tipul fenoxibenzaminei [114]. În aceeaşi perioadă au apărut şi datele lui Haas şi Goldblatt care au pus în evidenţă fenomenul de potenţare a răspunsului cardiovascular la angiotensina II ca urmare a activării neuronilor ganglionari cu substanţe de tipul dimetilfenilpiperazinei (DMFP) [118]. Acest efect de facilitare este însă abolit după suprarenalectomie bilaterală sau după administrare de fentolamină [116].

Suprarenalectomia la şobolan induce o scădere a acţiunii vasopresoare a angiotensinei II, iar perfuzia suprarenalei de şobolan cu acest peptid produce o sporire a secreţiei de catecolamine [117]. Feldberg şi Lewis au demonstrat că la pisica eviscerată se induce o stimulare puternică a eliberării de catecolamine, rezultate obţinute şi după injectarea intravenoasă a angiotensinei [115]. De asemenea, administrarea de angiotensină II stimulează secreţia de catecolamine şi de către suprarenala de câine izolată şi perfuzată [119, 120]. Rezultate asemănătoare au fost cunoscute şi în urma experienţelor *in vivo* la câine, pisică şi iepure [121, 122, 123, 124].

Este de reţinut faptul că efectul stimulator al angiotensinei II asupra medulosuprarenalei nu este inhibat de splanhnicectomie bilaterală, blocarea măduvei spinării cu anestezice locale sau de administrarea morfinei, hexametoniului, pentoliniumului, 5-hidroxitriptaminei, histaminei, bradikininei etc. [124, 125, 126]. De asemenea, în condiţiile instalării fenomenului de tahifilaxie la angiotensină la nivelul medulosuprarenalei, alţi secretagogi, cum ar fi acetilcolina, bradikinina şi nicotina nu-şi mai pot exercita efectul lor [124, 125, 127].

În prezenţa acestor rezultate a apărut logica întrebare: prin ce mecanism angiotensina II este capabilă să inducă stimularea eliberării de catecolamine? Una din posibilităţile care a fost incriminată este procesul de vasoconstricţie la nivelul glandei suprarenale ca urmare a administrării octapeptidului. Ea a fost bineînţeles eliminată întrucât bradikinina, cunoscută ca substanţă puternic vasodilatatoare, produce acelaşi efect. Altă supoziţie incriminează efectul stimulator al angiotensinei asupra splanhnicului, care prin descărcarea de acetilcolină ar excita celulele medulosuprarenale. S-a observat însă că după secţionarea nervilor respectivi şi degenerarea terminaţiilor lor se păstrează sensibilitatea la angiotensină a suprarenalei [125].

Studii efectuate pe celule medulosuprarenale izolate au pus în evidenţă că angiotensina II determină depolarizarea membranară a acestor celule [128]. Acest efect de depolarizare nu este modificat de hexametoniu

Scanned with OKEN Scanner

sau atropină în doze în care aceste substanțe produc inhibiția aceluiași fenomen indus de acetilcolină, nicotină și pilocarpină. Toate aceste studii indică efectul stimulator direct al angiotensinei II asupra țesutului cromafin medulosuprarenalian. Lee și De Wied au arătat că în timpul fazei de blocare a depolarizării ce urmează imediat după administrarea nicotinei în doze inhibitoare, angiotensina II nu poate să inducă secreția de catecolamine [129]. Din contră, acțiunea stimulatoare a angiotensinei II asupra secreției de aldosteron este potențată mai târziu în faza de postdepolarizare de după blocarea nicotinică [129, 130]. Administrarea de hexametoniu și pentolinium, cunoscuți ca factori ce împiedică activarea receptorilor nicotinici, are ca urmare, de asemenea, potențarea efectului angiotensinei II de stimulare a eliberării de catecolamine [124, 127]. Rezultă din aceste cercetări că angiotensina II își manifestă efectul său prin acțiune directă asupra membranei celulelor cromafine, medulosuprarenale independent de orice mecanism colinergic.

În urma experiențelor de perfuzie a glandei suprarenale *in situ*, Poisner și Douglas au observat că prezența ionului de calciu este necesară pentru eliberarea de catecolamine de către angiotensina II [123]. Necesitatea prezenței calciului extracelular în acest proces a fost confirmată și de Robinson [119] prin studii de suprarenală izolată de câine și de Peach și colab. [127] la pisică. Aparent, angiotensina și-ar manifesta efectul de depolarizare a membranei celulei cromafine ca rezultat al unui transfer net de ioni de calciu din exterior în interiorul celulei.

Nu se cunoaște dacă angiotensina are capacitatea de a iniția un efect de translocare a calciului intracelular și să inducă cuplarea procesului secretor fără depolarizarea membranei celulare.

Pentru a preciza interrelațiile dintre SRA și activitatea medulosuprarenalei s-au inițiat numeroase studii în care s-a urmărit acțiunea analogilor angiotensinei. Ca urmare a acestor studii s-a tras concluzia că, pentru a prezenta acțiune stimulatoare asupra medulosuprarenalei aceștia trebuie să întrunească următoarele condiții:

1. să existe cel puțin ultimii 6 aminoacizi din structură (restul 3-8 angiotensină II);
2. radicalul tirozinic este necesar să existe în poziția 4;
3. nucleul imidazolic al histidinei trebuie să fie în poziția 6;
4. este necesar ca prolina să fie legată de restul lanțului de 8 aminoacizi.

De asemenea, s-a ajuns la concluzia că radicalul C- terminal nu trebuie să fie un acid aminat aromatic pentru activitate cromafin-stimulatoare. Din contră, pentru activitate miotropă este necesară prezența unui aminoacid aromatic la sfârșitul lanțului peptidic [124, 125, 127].

Studii de aceeași factură au evidențiat că și Ang I prezintă capacități suficient de ridicate de stimulare a medulosuprarenalei, prezentând

Scanned with OKEN Scanner

aproximativ 95 % din activitatea Ang II. Administrarea de anticorpi anti-Ang II sau a unui inhibitor al enzimei de conversie nu blochează efectul stimulator al Ang I asupra țesutului cromafin. În urma unor astfel de studii pe suprarenală izolată și perfuzată, Peach și colab. sugerează că Ang I ar avea acțiune directă asupra medulosuprarenalei eliberând catecolamine [127]. Datele existente până în prezent conchid că atât Ang I, cât și Ang II interacționează cu același tip de receptor din țesutul cromafin.

Unul din neajunsurile întâlnite atât după injectarea reninei (1-2 μg), cât și ca urmare a perfuziei medulosuprarenalei cu angiotensină în doze suficient de largi a fost apariția fenomenului de tahifilaxie. Utilizând preparate crude de renină, Feldberg și Lewis au arătat că efectul de stimulare a secreției de catecolamine este blocat atât pentru Ang II, cât și pentru bradikinină, în timp ce acțiunea acetilcolinei nu este modificată [125]. De asemenea, Staszewska-Barczak și Vane [124] și Peach și colab. [127] au descris fenomenul de tahifilaxie încrucișată între angiotensină și bradikinină. Același fenomen a fost semnalat de Peach și colab. și între Ang II și heptapeptidul (2-8-Ang II), ca de altfel și în cazul a multor alți analogi ai octapeptidului activ [127].

Deși fenomenul de tahifilaxie se dezvoltă suficient de rapid, stimularea secreției de catecolamine poate fi susținută 10–30 de minute, utilizând doze mici de angiotensină [122, 127].

Severs și colab. au demonstrat că Ang II stimulează țesutul cromafin nu numai prin acțiune directă, ci și indirectă prin intermediul sistemului nervos [131]. Plecând de la observațiile că administrarea parenterală de P-286 (N,N-di-izopropil-N'-izoamil-dietilaminoetiluree) interceptează răspunsul presor al Ang II injectată intraventricular, Gardier și colab. au urmărit efectul aceleiași manevre la nivelul țesutului cromafin și au observat o blocare și a secreției de catecolamine [132]. Mai mult, s-a observat că perfuzia retrogradă a suprarenalei de pisică cu P-286 abolește secreția de catecolamine ca urmare a introducerii KCl, nicotinei sau a angiotensinei II. Se poate spune deci că administrarea de P-286 blochează atât efectele directe, cât și acelea mediate central ale angiotensinei.

În condițiile în care este bine stabilit că angiotensina este capabilă să stimuleze secreția de catecolamine se ivește dificultatea de precizare dacă acești hormoni eliberați joacă un rol semnificativ în răspunsul cardiovascular la angiotensină sau dacă adrenalina și noradrenalina astfel eliberate contribuie la producerea sau menținerea hipertensiunii renale. Salmoiraghi și Mc Cubbin au demonstrat însă că suprarenalectomia la câini nu modifică răspunsul presor la angiotensină [133]. Ulterior, Feldberg și Lewis [115], Peach și Ford [122] și Peach și colab. [127] ajung la aceeași concluzie lucrând pe pisică, câine și iepure. Totuși, Gross și Sulser [134] și Cession și Cession – Fossion [117] au găsit un răspuns presor diminuat la

Scanned with OKEN Scanner

şobolanii suprarenalectomizaţi. Există deci diferenţe în funcţie de specie. În acelaşi context s-au descris diferenţe şi în funcţie de calea de administrare a angiotensinei. Astfel, Feldberg şi Lewis [115] au arătat că administrarea intraarterială de angiotensină la pisica suprarenalectomizată bilateral induce un răspuns presor mai scăzut.

Lee şi De Wied au observat că atât faza de depolarizare indusă de blocarea cu nicotină, cât şi suprarenalectomia, produc o scădere identică a răspunsului presor indus prin injecţia intraarterială de Ang II [129].

Aceste din urmă studii prezintă o importanţă particulară întrucât se cunoaşte că Ang II endogenă se formează în plămân aşa încât în condiţiile organismului, nivelul cel mai ridicat al angiotensinei se găseşte în sângele arterial [135].

Prezintă vreo importanţă practică aceste studii în care s-au stabilit interrelaţiile dintre activitatea glandei medulosuprarenale şi SRA? La această întrebare răspund unele rezultate care atestă rolul de modulator al fluxului sanguin. Astfel, după injectarea intravenoasă, Ang II produce vasodilataţie la nivelul muşchilor scheletici ai membrelor, efect ce este blocat prin administrarea de inhibitori β-adrenergici sau ligatura suprarenalei [136].

Triner şi colab. au demonstrat că noradrenalina şi adrenalina eliberate de către Ang II cresc acizii graşi liberi şi glicerina plasmatică. Efectele respective sunt blocate de acidoză sau tratamentul cu rezerpină.

Utilizând modele de instalare a hipertensiunii renale, atât Goldblatt şi colab. [118], cât şi Fasciolo [137], Page [138], Fregley [139] şi Finch şi Leach [140] au arătat că îndepărtarea ambelor suprarenale nu modifică instalarea fenomenelor cunoscute.

Din contră, Thurau şi colab. au găsit că medulloscleroza chimică, produsă prin injectarea în medulosuprarenală de salicilat de sodiu 40%, previne instalarea hipertensiunii ca urmare a clampării arterelor renale [141].

Luând însă în consideraţie efectele hemodinamice, metabolice şi presoare ale Ang II exogene este greu de înlăturat ideea că aminele eliberate de medulosuprarenala stimulată prin angiotensină nu ar fi implicate în hipertensiunea renală. Până în prezent există însă prea puţine date care să demonstreze rolul semnificativ pe care îl joacă medulosuprarenala în hipertensiunea renală.

Bibliografie:

1. Luetscher J.A., Curtis R.H. Journal of Clinical Investigation 1955, 34: 951.
2. Conn J.W., Louis L.H. Transactions of the Association of American Physicians 1955, 68: 215–33.
3. Giroud C.J.P., Stachenko J., Picetta P. Aldosterone. In: Muller AF, O'Conner C.N. eds. Boston: Little, Brown and co, 1958, p. 52.

Scanned with OKEN Scanner

5. CĂI ALTERNANTE ALE SISTEMULUI RENINĂ-ANGIOTENSINĂ

Timp de mulți ani, angiotensina II a fost considerată singurul hormon circulant rezultat din acțiunea protează a reninei de origine renală asupra angiotensinogenului plasmatic. Cercetările biochimice, imunohistochimice, fiziologice și farmacologice din ultimele trei decenii au adus importante reconsiderări acestui punct de vedere, întregindu-l cu conceptul nou despre SRA tisular de origine extrarenală.

La rândul lor, tehnicile moderne de biologie celulară și moleculară au contribuit substanțial la progresele cognitive și aplicative actuale privind prezența factorilor necesari sintezei locale de angiotensină la nivelul diverselor țesuturi și organe.

Încă din 1956, Dengler și colaboratorii [31] semnalau existența unei activități renin-like dozabile nu numai în plasmă ci și în vasele mezenterice ale animalelor binefrectomizate. Din aceeași perioadă datează cercetările asupra activității renin-like din glandele submaxilare [164], peretele vaselor sanguine [29] și complexul utero-placentar [17]. O activitate angiotensinogenazică a fost constatată ulterior de diverși autori în splină, pancreas, ficat, plămân, inimă și vase, glandele suprarenale, testicule, ovare, timus și creier. Într-un studiu consacrat enzimelor renin-like tisulare denumite generic izorenină, Ganten și colab. [57] (tabelul 5.1.) au semnalat că acestea depășesc în multe cazuri concentrațiile reninei circulante de origine renală. Valorile medii constatate la mamifere și om în diversele țesuturi și organe au fost următoarele:

Tabelul 5.1. - Concentrațiile izoreninei în diverse țesuturi și organe [57]

Țesuturi	Concentrații (ng Ang. I/h/gr.proteină)
Peretele vaselor sanguine (câine)	3,5
Aortă	2,5
Mezenterice	2,4
Safenă	40
Plex coroid	1,7
Carotidă	
Creier (uman)	28
Cerebel	16,2
Hipotalamus	11,9
Nucleu caudat	

Scanned with OKEN Scanner

Cortex	14,3
Hipocampus	16,7
Lob temporal	25,7
Glioblastom	51,4
Glande suprarenale (pisică)	
Cortex suprarenală	15
Medulosuprarenală	27
Glande salivare (şoarece)	9200
Plămân-tumoră (om)	44,5
Uter (iepure)	100
Cord (câine)	33
Ficat (câine)	140
Rinichi (câine)	23500
Plasmă (câine)	1,0

Pe plan funcţional s-a dovedit că renina de origine tisulară participă la biosinteza locală de angiotensină biologic activă. Astfel, paralel cu studiul prezenţei, proprietăţilor morfochimice, şi implicaţiilor funcţionale ale SRA de origine renală, s-au acumulat suficiente dovezi experimentale în favoarea existenţei unor surse extrarenale de renină generatoare de angiotensină.

Dovezi convingătoare privind prezenţa reninei în numeroase ţesuturi extrarenale au fost aduse ulterior de cercetările cu anticorpi specifici antirenină [106,75].

Un mare pas înainte l-a constituit descoperirea angiotensinogenului şi enzimei de conversie în plămân, ficat, rinichi şi alte organe, inclusiv în ţesutul nervos cerebral [173]. În prezent se admite că numeroase ţesuturi şi organe conţin o parte sau toţi factorii necesari sintezei locale de Ang. II activă.

Tabelul 5.2. - Activitatea reninei imunosupresibile din diferite ţesuturi şi plasmă la şoarecii nefrectomizaţi [75]

Ţesut	**Activitatea reninei (ng. Ang I/h/mg. Proteină)**
Masculi	
- Glande suprarenale	571 ±68,9
- Splină	326 ±45,1
- Aortă	175 ±27,6
- Testicule	138±20
- Ficat	67,6 ± 6,3
- Tract gastro-intestinal	50,5 ± 16,2
- Plămân	48,2 ± 14,2
- Muşchi striat	41,5 ±10,4

Scanned with OKEN Scanner

- Cord	17,3 ±4,1
- Creier	7,6 ± 1,6
- Hipofiză anterioară	2,2 ± 0,2
- Rinichi	188±72
- Plasmă	0,7 ±0,2
Femele	
- Glande suprarenale	496 ± 74,5
- Uter	80,4 ±11,5
- Ovar	68,5 ± 8,7
- Plasmă	0,2 ±0,1

Atât cercetările pe culturi de celule, cât şi determinările imunocitochimice cu anticorpi specifici au demonstrat coexistenţa reninei, angiotensinogenului, enzimei de conversie şi ang.II active la nivelul aceleiaşi celule sau ţesut [37], constatare confirmată de cercetările recente asupra expresiei genice şi ARN mesager specific acestora. Criteriile ce fundamentează conceptul actual de SRA tisular, extrarenal, sunt următoarele:

– Prezenţa tuturor componentelor la nivel tisular;
– Izorenina - enzimă proteolitică, glicoproteică cu GM=40 000 Da;
– Localizare intracelulară şi sinteză în culturi de celule;
– Nivelul ridicat după binefrectomie;
– Diferenţe fizico-chimice (pH, punct izoelectric etc.);
– Blocajul formării urmat de consecinţe funcţionale locale;
– Expresie genică (ARNm) specifică reninei, angiotensinogenului şi enzimei de conversie;
– Identificarea genei reninei la şobolani cu HTA spontană;
– Incorporarea genei reninei la animalele normale producătoare de HTA (şobolani transgenici);
– Expresie genică înaltă, specifică reninei, în diencefal şi trunchiul cerebral la şobolanii transgenici.

Atât renina, cât şi angiotensinogenul pot avea origine extrarenală, fiind internalizate prin endocitoză fie sintetizate local la nivel intracelular.

În ambele cazuri angiotensina rezultată acţionează ca sistem hormonal local în sens autocrin (asupra propriei celule) sau paracrin (asupra celulelor înconjurătoare). Biosinteza şi acţiunile hormonale locale ale SRA tisular sunt ilustrate în figura următoare (figura 5.1.).

Astfel, conceptul clasic al SRA circulant de origine renală s-a extins şi întregit cu cel de SRA tisular, extrarenal, ca sistem hormonal local, de tip paracrin sau autocrin, precizându-se distribuţia şi o mare parte din funcţiile proprii ale acestuia.

Scanned with OKEN Scanner

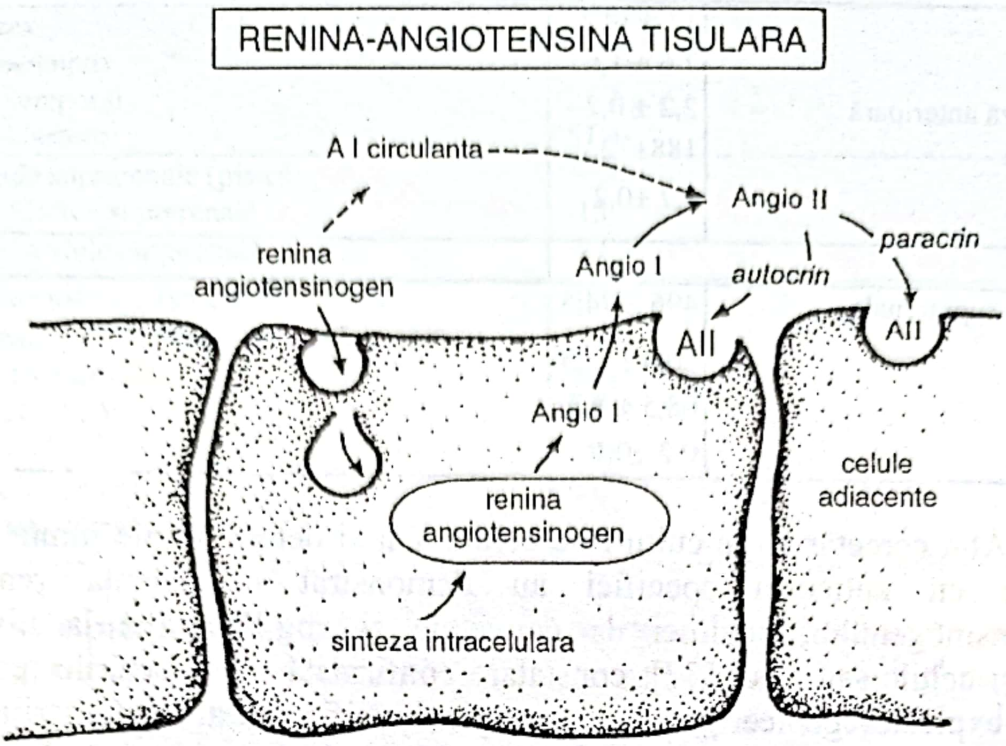


Figura 5.1. Căile de formare ale sistemului renină-angiotensină tisular [116].

În cele ce urmează vor fi trecute în revistă principalele cunoştinţe referitoare la prezenţa enzimelor tisulare formatoare de angiotensine biologic active şi implicaţiile funcţionale ale SRA extrarenal la nivelul diverselor ţesuturi şi organe.

5.1. ENZIME EXTRARENALE ANGIOTENSIN-FORMATOARE

Problema originii exclusiv renale a reninei circulante, pusă sub semnul întrebării de cercetările lui Dengler şi colaboratorii [31], Werle şi colaboratorii [164] şi Davis şi colaboratorii [29], a determinat în anii următori numeroase studii experimentale asupra enzimelor renin-like tisulare formatoare de angiotensină [57, 58, 59] din angiotensinogenul plasmatic sau sintetizat local. Într-un amplu studiu efectuat de Genest şi colaboratorii [58], sunt prezentate două categorii de enzime renin-like tisulare angiotensin-formatoare.

5.1.1. ENZIME RENIN-LIKE TISULARE

O primă categorie de enzime renin-like tisulare este reprezentată de *izorenină*, protează identică cu renina de origine renală şi de *catepsina D*,

Scanned with OKEN Scanner

mai activă decât renina la pH acid. Ambele enzime realizează scindarea angiotensinogenului în angiotensină I inactivă, urmată de participarea enzimei de conversie la transformarea acesteia în angiotensină II activă.

Cercetările privind purificarea, structura chimică și funcțiile enzimelor tisulare formatoare de angiotensină I au precizat că, spre deosebire de izorenină, care, având structura identică cu a reninei renale, este o aspartilprotează monomerică, rezultată din activarea proreninei de către proteazele acide, catepsina D este o enzimă proteolitică lizozomală cu pH optim sub 6, activă mai ales în condiții patologice. Diferențe calitative și cantitative între aceste două enzime au evidențiat ulterior atât separările cromatografice cât și dozările radioimunologice.

Din cea de a doua categorie de enzime renin-like face parte *tonina* și *catepsina G*. Spre deosebire de izorenină și catepsina D, acestea realizează sinteza directă de ang. II din angiotensinogenul tisular.

Cercetările referitoare la enzimele renin-like formatoare pe cale directă de ang. II activă au stabilit că acestea sunt serinproteaze cu localizare predominantă în granulele azurofile ale leucocitelor în cazul catepsinei G, și citosolică în cazul toninei din creier, glandele suprarenale și salivare, lichidul amniotic și celulele tubulare renale [58]. Calea alternantă a formării directe de ang. II cu participarea toninei este prezentată în figura 5.2.

Deși ambele enzime acționează la pH neutru asupra angiotensinogenului generând ang. II activă, ele se comportă diferit în cazul altor substrate, în timp ce catepsina G leucocitară hidrolizează hemoglobina, fibrinogenul și cazeina, tonina activează atât prorenina, cât și enzima de conversie formatoare de ang. II activă [60].

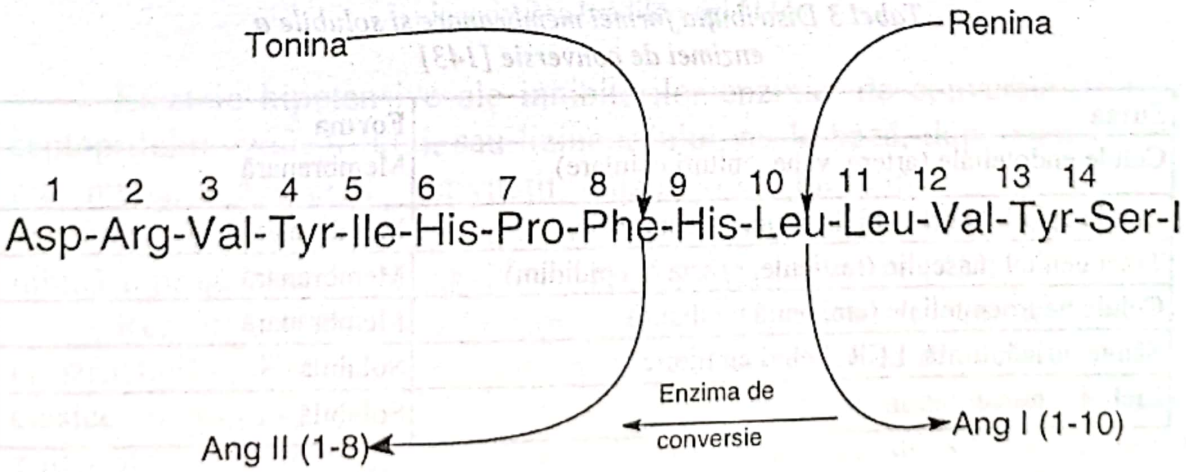


Figura 5.2. Calea alternantă a formării de ang. II cu participarea toninei.

Scanned with OKEN Scanner

Relaţii interesante au fost puse în evidenţă între tonină şi enzima de conversie tisulară. Studiind efectele toninei extrase şi purificate din glanda salivară de şobolan, Boucher şi colab. [12] au constatat că aceasta este capabilă să intensifice conversia ang. I în ang. II. Cu ajutorul tehnicilor imunohistochimice şi a separărilor cromatografice s-a precizat că extractele tisulare conţin, în afară de tonină, cantităţi mari de enzimă de conversie.

5.1.2. ENZIMA DE CONVERSIE

Descoperită iniţial în plasma sanguină de cal [142], enzima de conversie a fost identificată ulterior în numeroase ţesuturi şi organe. Din punct de vedere chimic, enzima de conversie este o dipeptidil carboxipeptidază cu doi atomi de zinc în structura sa metaloproteazică, prevăzută cu capacitatea de a disloca ultimii doi aminoacizi (His-Leu) ai ang I inactive, transformând-o în ang II activă. Peste 90% din conţinutul în enzimă de conversie a organismului este de origine tisulară [40]. Doar 1-10% se găseşte în plasma sanguină. Distribuţia formei membranare şi solubile a enzimei de conversie este prezentată în tabelul următor (tabelul 5.3.).

Aceasta este prezentă atât în celulele endoteliale ale întregului arbore vascular, cât şi în cord, suprarenale, creier, LCR, lichidul amniotic, testicule, prostată, epiteliul placentar intestinal şi tubular renal, sânge şi urină. Fiind o zinc-metal-proteinază cu structură glicoproteică şi având localizare predominant membranară, enzima de conversie posedă proprietăţi generatoare de ang. II activă, prin mecanismul îndepărtării dipeptidului terminal al decapeptidului ang. I, precum şi acţiuni de clivare şi inactivare a unor peptide biologic active, cum sunt bradikinina, substanţa P, enkefalina, dinorfina şi neurotensina [143].

Tabel 3 Distribuţia formei membranare şi solubile a enzimei de conversie [143]

Sursa	**Forma**
Celule endoteliale (artere, vene, culturi celulare)	Membranară
Celule epiteliale (rinichi, intestin, placentă)	Membranară
Tract genital masculin (testicule, prostată, epididim)	Membranară
Celule neuroepiteliale (eminenţă mediană)	Membranară
Sânge, urină, limfă, LCR, lichid amniotic	Solubilă
Lichid seminal	Solubilă

O atenţie deosebită s-a acordat în ultimii ani activităţii kininazice inactivante de kinine plasmatice a enzimei de conversie, de care depinde conţinutul în bradikinină permeabilizantă şi vasodilatatoare locală.

Scanned with OKEN Scanner

Posedând proprietăți enzimatice nespecifice de kininază II, enzima de conversie plasmatică și tisulară realizează atât sinteza de ang. II activă, cât și inactivarea bradikininei, inducând predominanța proprietăților vasoconstrictoare și hormonale locale ale angiotensinei (figura 5.3.).

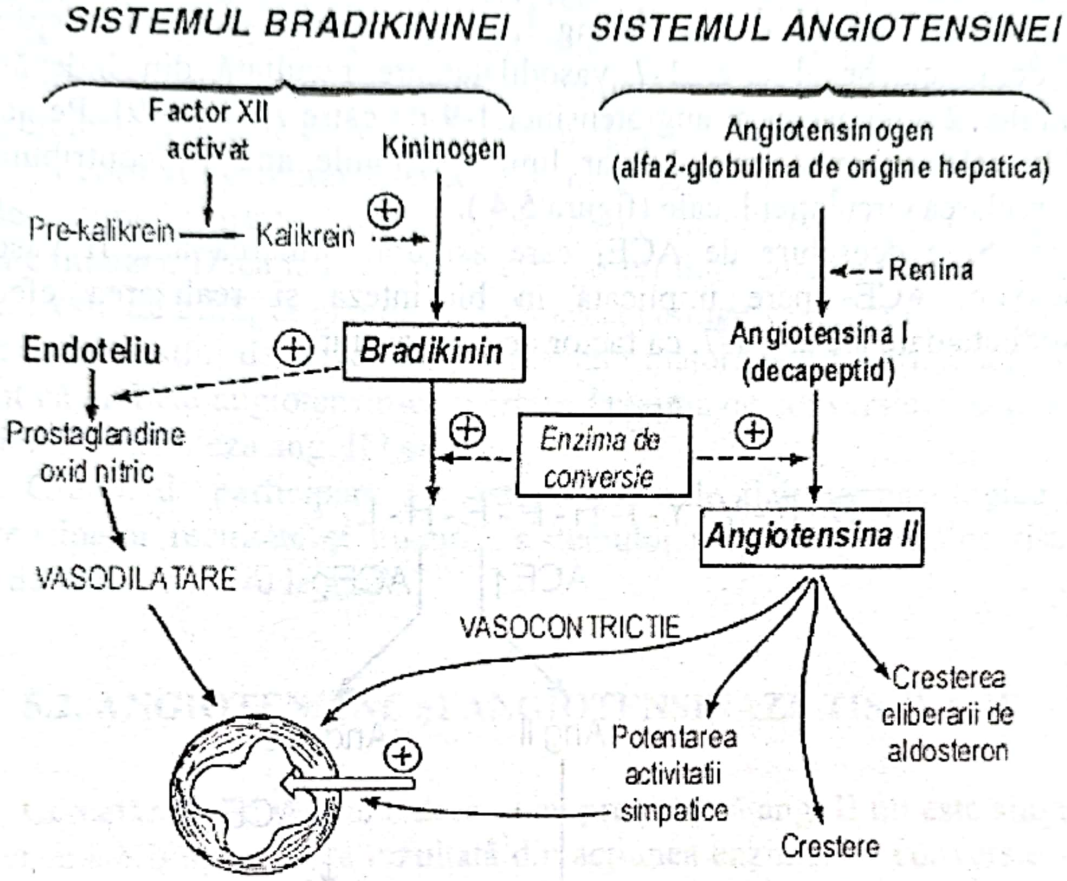


Figura 5.3. Rolul enzimei de conversie în sinteza angiotensinei și inactivarea bradikininei [116].

Efectele hipotensive ale inhibitorilor enzimei de conversie de tipul captoprilului, enalaprilului, sau lizinoprilului, au la bază, după cum se știe, nu numai reducerea activității enzimatice formatoare de ang. II vasoconstrictoare, ci și creșterea bradikininei vasodilatatoare, ca urmare a inhibării proprietăților kininazice ale enzimei de conversie [45].

Recent, s-a descoperit o nouă enzimă de conversie denumită ACE_2, cu structură carboxipeptidazică identică cu a enzimei de conversie (ACE_1) clasice în proporție de numai 42%. Situsul activ al acestei noi metalozincproteaze fiind transmembranar, este prevăzută cu un singur domeniu catalitic [33].

Spre deosebire de ACE_1, aceasta se găsește la om numai în cord, rinichi și testicul și nu este inhibată de captopril sau lizinopril. La nivel

Scanned with OKEN Scanner

cardiac, ACE_2 predomină în endoteliul şi musculatura netedă a vaselor coronare, iar în rinichi a fost identificată atât în teritoriul vascular endotelial şi parietal cât şi în celulele epiteliale ale tubilor proximali [33].

Având un singur domeniu catalitic, ACE_2 realizează hidroliza leucinei din lanţul terminal al decapeptidului ang. I formând ang. 1-9 ale cărei acţiuni tisulare sunt în studiu. După Snyder şi Wintroub [147], ang. 1-9 inhibă ACE_1, diminuând sinteza ang. II vasopresoare şi totodată îndeplineşte rol de precursor al ang. 1-7 vasodilatatoare rezultată din îndepărtarea ultimilor 2 aminoacizi ai angiotensinei 1-9 de către ACE_1 [49]. Pe această dublă cale indirectă, ang 1-9 ar limita acţiunile ang II, contribuind la autoreglarea circulaţiei locale (figura 5.4.).

Spre deosebire de ACE_1 care asigură formarea ang II vasoconstrictoare, ACE_2 pare implicată în biosinteza şi realizarea efectelor vasodilatatoare ale ang 1-7, ca factor de contracarare.

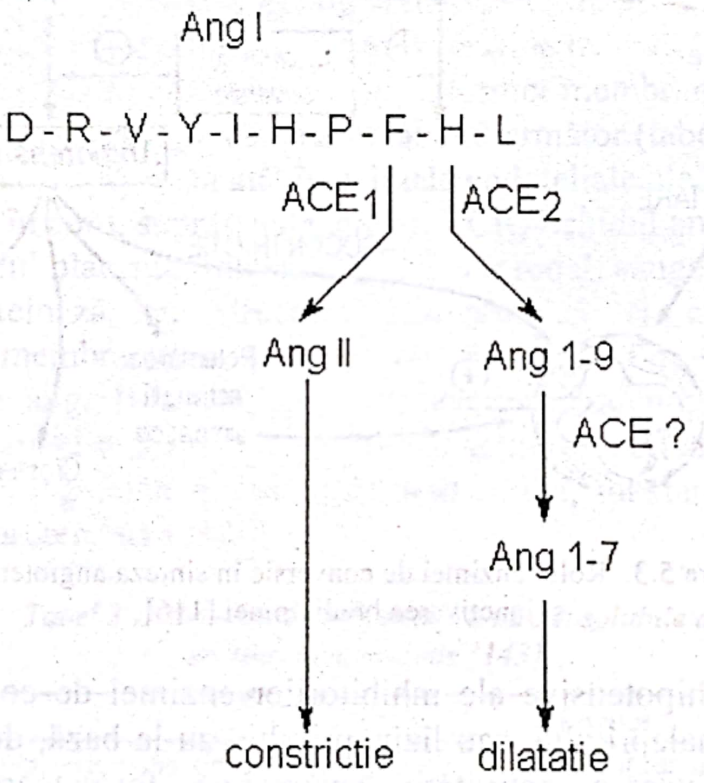


Figura 5.4. Clivarea Ang I de către enzima de conversie ACE_2 [33].

5.1.3. CHIMAZA

Plecând de la observaţia că inhibitorii enzimei de conversie reduc numai cu 25% formarea bazală de ang. II activă în cordul uman, Urata şi colab. [161] au evidenţiat biochimic şi radioimunologic existenţa unei noi

Scanned with OKEN Scanner

căi generatoare de ang. II, reprezentată de participarea chimazei tisulare. Spre deosebire de enzima de conversie, prezentă mai ales în celulele endoteliale ale arborelui vascular, chimaza are localizare predominant mastocitară, nu posedă proprietăți kininazice, inactivează doar neurotensina și este inhibată specific de către chimostatină. Aceasta este o serinprotează bazică cu structură glicoproteică și greutate moleculară de 30 000 Da. Prezența unei astfel de căi angiotensin-formatoare independente de a enzimei de conversie a fost ulterior evidențiată în vase, ficat, plămân, piele [161], creier și glandele endocrine craniene [7].

În cortexul cerebral, diencefal și mezencefal, din contră, deși există ambele enzime formatoare de ang. II activă, enzima de conversie predomină asupra chimazei. Dacă la nivel cortical raportul între enzima de conversie și chimază este de 52:8, în glanda pineală acesta atinge valoarea de doar 7:74. Pe baza unor astfel de dovezi experimentale majoritatea autorilor admit în prezent că ambele angiotensin-convertaze (enzima de conversie și chimaza) participă la biosinteza ang. II tisulare.

Gradul de participare a acestora, acțiunile fizio-farmacologice ale angiotensinelor rezultate și funcțiile sistemului renină-angiotensină tisular diferă de la un teritoriu la altul.

5.2. ANGIOTENSINE ȘI ANGIOTENSINAZE TISULARE

Cercetările din ultimele decenii au precizat că ang. II nu este singura angiotensină biologic activă rezultată din acțiunea enzimei de conversie sau chimazei asupra ang. I inactive și că o parte din produșii săi de metabolizare posedă proprietăți similare sau contrare acesteia. Din această categorie fac parte angiotensinele III (2-8), IV (3-8) și ang. (1-7) sintetizate sub influența unor peptidaze tisulare asupra octapeptidului ang. II.

Majoritatea țesuturilor și organelor conțin o serie de asemenea peptidaze generatoare de fragmente active sau inactive ale octapeptidului ang II, denumite generic angiotensinaze. Din această categorie fac parte aminopeptidazele, endopeptidazele, carboxipeptidazele și alte enzime proteolitice (pepsină, tripsină, chimotripsină). Acestea realizează diferite grade de metabolizare a angiotensinei, producând o gamă variată de produși intermediari activi sau de metaboliți inactivi.

Referitor la biosinteza peptidelor active rezultate s-a precizat că generarea de angiotensină II este urmată de activarea peptidazelor prevăzute cu capacitatea de transformare a acesteia în angiotensine III și IV biologic active. Larg distribuite la nivelul diverselor țesuturi și organe, acestea acționează în mod diferit asupra structurii octapeptidice a angiotensinei II

Scanned with OKEN Scanner

active. In timp ce aminopeptidazele hidrolizează legătura azotului terminal al ang. II, determinând formarea de ang. III sau ang. IV, endopeptidazele şi carboxipeptidazele desfac legăturile intermediare şi respectiv, terminale ale angiotensinelor active realizând degradarea şi inactivarea acestora. Schema de ansamblu a participării enzimelor formatoare şi inactivante de angiotensine circulante şi tisulare este cea din figura 5.5.

De precizat că aminopeptidazele A şi B convertesc în mod diferit ang. II activă. Clivând primul aminoacid (acid aspartic) al lanţului peptidic, aminopeptidaza A formează heptapeptidul ang. III (2-8). Îndepărtarea şi a celui de-al doilea aminoacid (arginină) din structura peptidică a ang. II de către aminopeptidaza B duce la formarea hexapeptidului ang. IV (3-8).

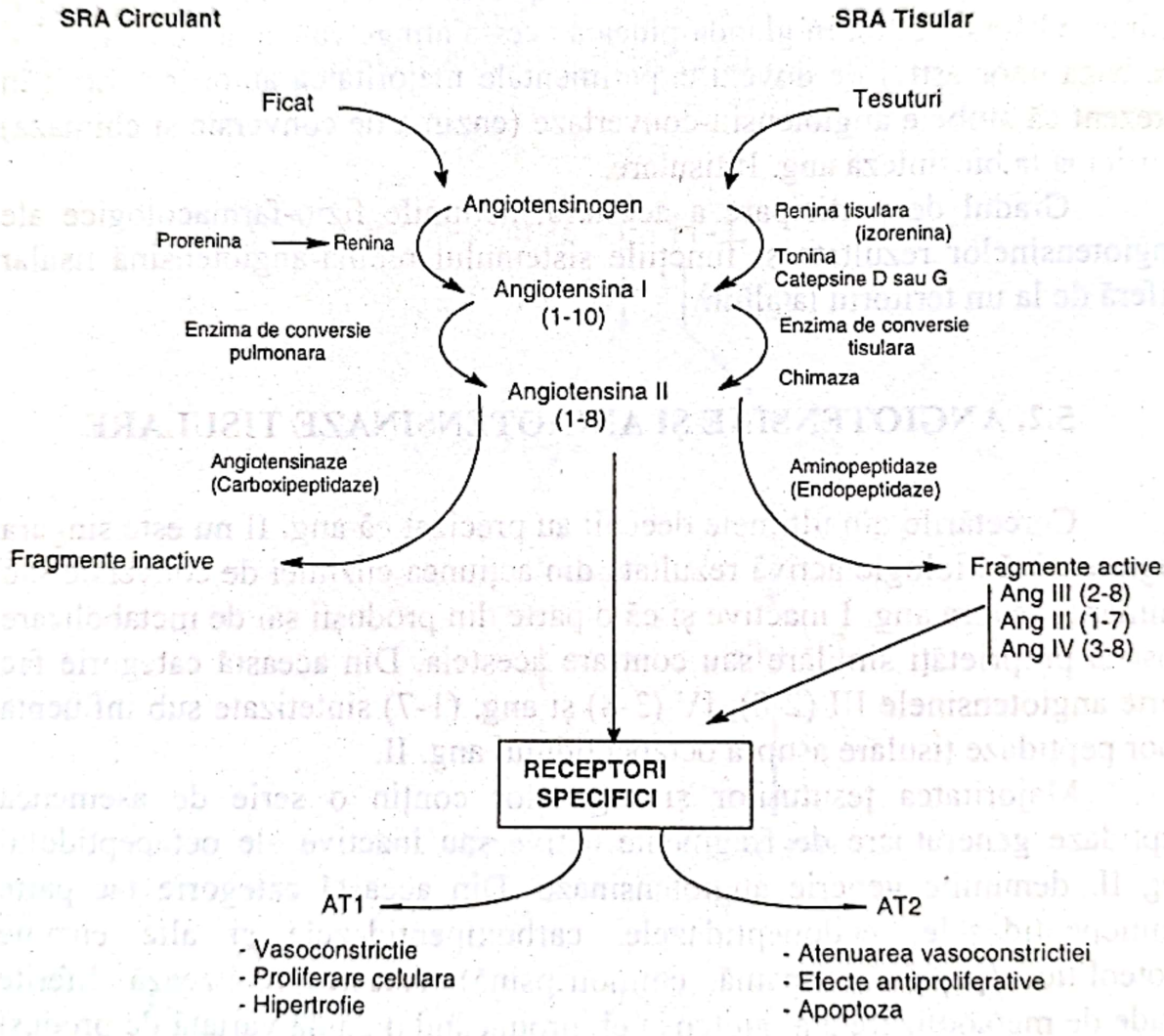


Figura 5.5. Schema de ansamblu a participării enzimelor formatoare şi inactivante de angiotensine circulante şi tisulare [155].

O nouă cale alternantă de formare a ang. III (2-8) a fost descoperită de Ferrario şi colab. [48]. Aceasta realizează transformarea mai întâi a ang. I în nonapeptidul des-Asp-ang.I de către o endopeptidază, urmată de acţiunea

Scanned with OKEN Scanner

hidrolitică a enzimei de conversie în vederea îndepărtării ultimilor doi aminoacizi (His-Leu) ai lanțului său terminal și a formării de ang. III (2-8).

Același grup [48] a descoperit ang. (1-7) rezultată din clivarea ang. II la nivelul prolinei de către o prolilendopeptidază prezentă în membranele celulelor endoteliale, epiteliale și musculare. Recent s-a constatat că ang. 1-7 poate rezulta și din clivarea de către ACE_1 a ultimilor doi aminoacizi ai ang. 1-9 formată la rândul său din ang. I în prezența ACE_2 [33].

Căile de formare și inactivare a angiotensinelor biologic active cu participarea acestei noi enzime de conversie tisulară sunt prezentate în figura 5.6.

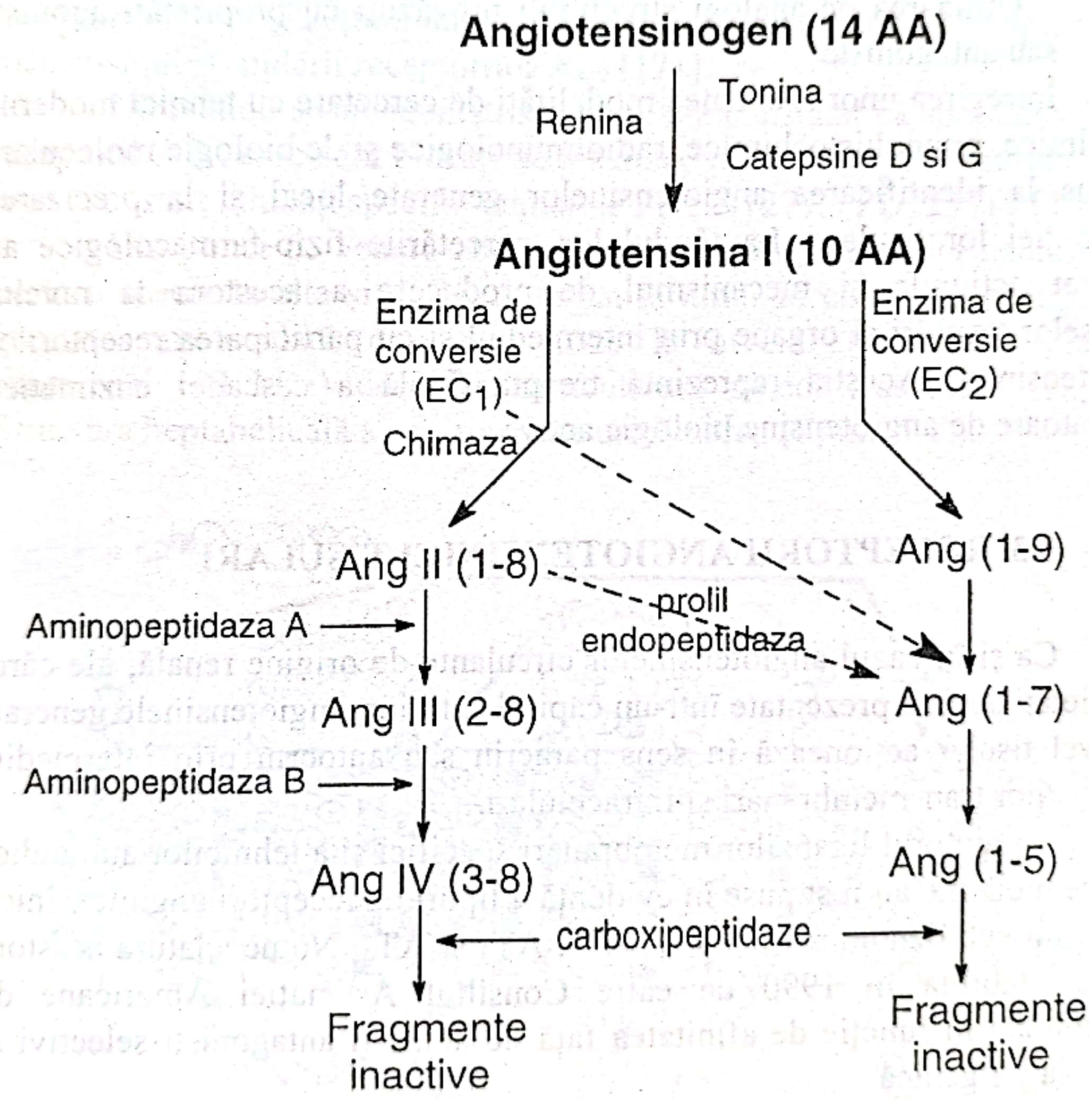


Figura 5.6. Căile de formare și inactivare a angiotensinelor biologic active.

Descoperirea angiotensinelor generate local pe căi enzimatice diferite a fost urmată de ample cercetări experimentale asupra efectelor centrale și periferice ale acestora. Proprietățile lor fizio-farmacologice variabile de la un teritoriu la altul au fost definite prin:

Scanned with OKEN Scanner

– Identificarea şi aprecierea activităţii enzimelor tisulare angiotensin-formatoare;

– Injectarea de angiotensine biologic active la animale de experienţă şi om;

– Identificarea receptorilor tisulari specifici;

– Folosirea de inhibitori ai enzimelor de conversie implicate în sinteza sau acţiunile angiotensinelor respective;

– Folosirea de liganzi specifici receptorilor angiotensinici;

– Utilizarea de analogi structurali prevăzuţi cu proprietăţi agoniste sau antagoniste.

Întregirea unor asemenea modalităţi de cercetare cu tehnici moderne biochimice, imunohistochimice, radioimunologice şi de biologie moleculară au dus la identificarea angiotensinelor generate local şi la precizarea distribuţiei lor tisulare. La rândul lor, cercetările fizio-farmacologice au precizat acţiunile şi mecanismul de producere a acestora la nivelul diverselor ţesuturi şi organe prin intermediul şi cu participarea receptorilor angiotensinici. Aceştia reprezintă treapta finală a cascadei enzimatice generatoare de angiotensine biologic active.

5.3. RECEPTORII ANGIOTENSINICI TISULARI

Ca şi în cazul angiotensinelor circulante de origine renală, ale căror proprietăţi au fost prezentate într-un capitol anterior, angiotensinele generate la nivel tisular acţionează în sens paracrin sau autocrin prin intermediul receptorilor transmembranari şi intracelulari.

Cu ajutorul liganzilor membranari specifici şi a tehnicilor autoradiografice moderne au fost puse în evidenţă 4 tipuri de receptori angiotensinici, cunoscuţi sub denumirea de AT_1, AT_2, AT_3 şi AT_4. Nomenclatura acestora a fost stabilită în 1990 de către Consiliul Asociaţiei Americane de Cardiologie în funcţie de afinitatea faţă de anumiţi antagonişti selectivi şi expresia lor genică.

Cercetările privind prezenţa receptorilor angiotensinici la nivelul diverselor ţesuturi şi organe au precizat că în timp ce receptorii AT_1 sunt larg distribuiţi în rinichi, cord, musculatura netedă vasculară, creier, plămân, ficat, tubul digestiv, hipofiza anterioară şi glandele suprarenale, receptorii AT_2 predomină în creier, pancreas, ovar, uter şi vasele musculaturii scheletice, fără a lipsi din celelalte structuri angiotensin receptoare centrale

Scanned with OKEN Scanner

şi periferice. La nivel cerebral, receptorii AT_1 ating densitatea maximă în structurile hipotalamice şi periependimare (OSF, OVLT), în timp ce receptorii AT_2 sunt localizaţi difuz în talamus, nucleii bazali, aria septală, amigdală, locus coeruleus, punte, nucleii olivar inferior şi ai nervului hipoglos [168]. Ang. II şi în măsură mai mică ang. III acţionează asupra ambilor tipuri de receptori, determinând reacţii neuroendocrine, cardiovasculare şi comportamentale de diferite grade, ce vor fi menţionate ulterior la capitolul consacrat SRA cerebral.

La nivelul arborelui vascular periferic, cele două angiotensine (II şi III) produc efecte vasoconstrictoare şi hiperplazice prin intermediul receptorilor AT_1 şi acţiuni antiproliferative şi activatoare ale apoptozei prin mecanismul stimulării receptorilor AT_2 [171].

Utilizându-se antagonişti selectivi, s-a constatat că spre deosebire de receptorii AT_1, care sunt blocaţi de losartan, valsartan şi candesartan, receptorii AT_2 sunt inhibaţi specific numai de PD1231277şi PD123319 [109].

Din punct de vedere chimic, receptorii angiotensinici tisulari diferă de la o specie la alta şi de la un organ la altul. În cazul receptorilor AT_1, greutatea moleculară este mai mare la nivelul teritoriului glandular suprarenal (79 kDa) decât în musculatura netedă vasculară (72 kDa). Structura heptahelicală a acestora este următoarea (figura 5.7.).

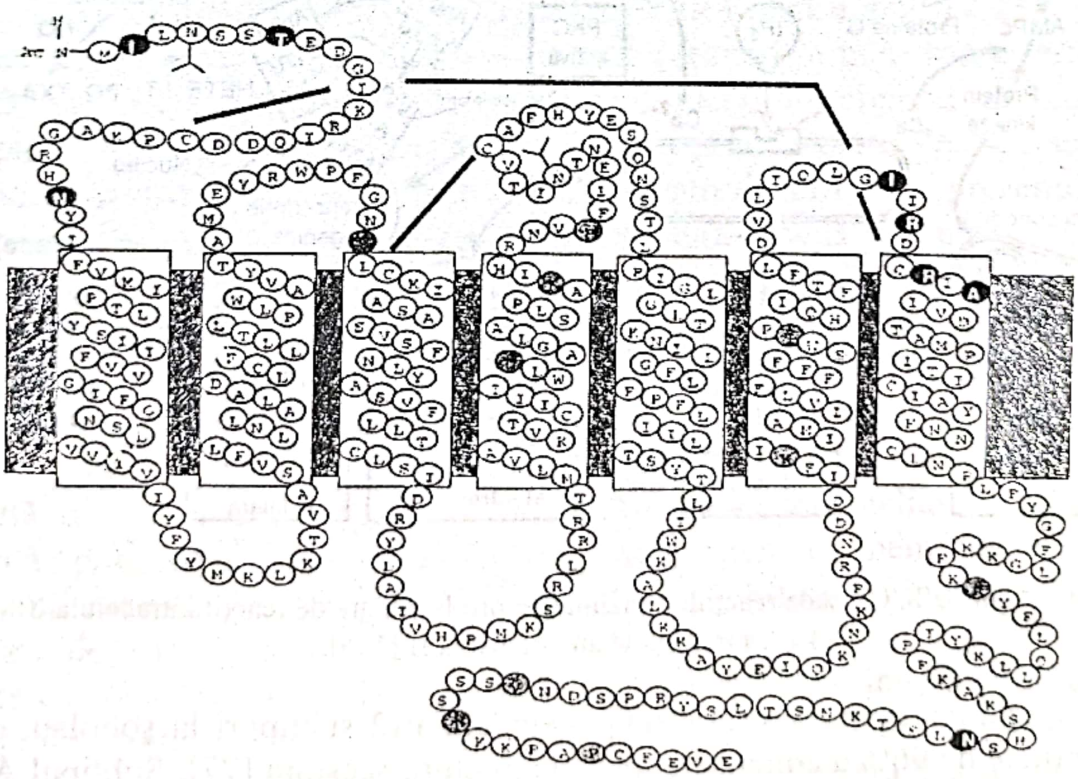


Figura 5.7 Structura polipeptidică heptahelicală a receptorilor angiotensinici de tip AT_1 [155].

Scanned with OKEN Scanner

Cuplarea angiotensinei II pe suprafaţa activă a receptorului determină activarea fosfolipazei C prin intermediul proteinei G, producerea de IP_3 şi DAG însoţită de mobilizarea Ca^{2+} intracelular şi stimularea proteinkinazei C generatoare de răspunsuri celulare specifice (vasoconstricţie, hiperplazie musculară, hipersecreţie de aldosteron etc.).

Concomitent are loc activarea atât a fosfolipazei A_2 eliberatoare de prostaglandină E_2 şi prostaciclină I_2, cât şi a sintezei proteice inductoare de creştere şi hiperplazie celulară. După Opie [116], ang. II ar stimula şi eliberarea unui factor de creştere de la nivelul miocitelor cardiace şi vasculare.

Cascada reacţiilor enzimo-chimice intracelulare declanşate de cuplarea ang II pe receptorii AT_1 este ilustrată în figura 5.8.

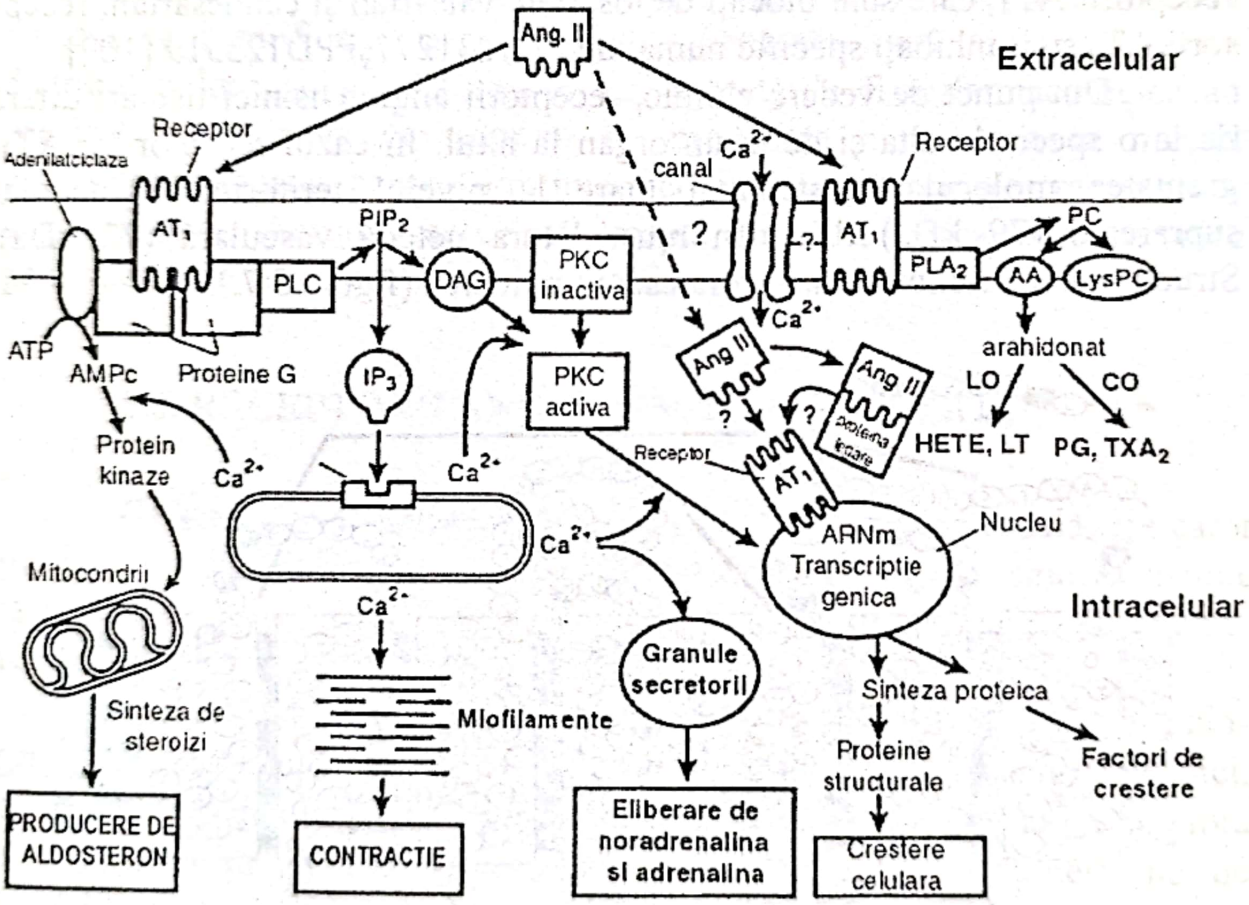


Figura 5.8. Cascada reacţiilor enzimatice producătoare de reacţii intracelulare produse de angiotensina II [155].

Clonarea receptorilor AT_1 a evidenţiat 2 subtipuri la şobolan, cu o identitate de 96% a aminoacizilor din structura acestora [77]. Subtipul AT_{1A} a fost identificat în ţesutul vascular şi rinichi, iar cel de tip AT_{1B} are localizare glandulară, hipofizară şi suprarenaliană. Ernsberger şi colab. [42]

Scanned with OKEN Scanner

au caracterizat subtipurile receptorilor AT_1 pe culturi de celule mezangiale renale şi au constatat că receptorul AT_{1A} prezintă o înaltă afinitate pentru losartan, în timp ce receptorul AT_{1B} este blocat de PD123319.

Spre deosebire de receptorii AT_1, care asigură majoritatea acţiunilor stimulatoare ale ang. II şi ang. III, receptorii AT_2 contracarează o mare parte din aceste acţiuni prin mecanismul activării intracelulare a fosfatazelor defosforilante, fosfolipazei A_2 şi a sistemului NO-GMP ciclic [113]. Transducţia semnalului de la receptori la nivelul enzimelor respective se realizează prin intermediul proteinei G_i, determinând defosforilarea proteinelor, inhibarea proliferării celulare, activarea caspazelor inductoare de apoptoză, eliberare de acid arahidonic şi formare de NO, cu consecinţe funcţionale multiple. Printre acestea figurează vasodilataţia, natriureza, apoptoza, inhibarea proliferării celulare şi modularea excitabilităţii neuronale centrale. După autorii sus-citaţi, rolul principal revine fenomenului în cascadă generat de activarea celor trei fosfataze defosforilante.

La rândul lor, receptorii AT_3 au fost descoperiţi în celulele cultivate de neuroblastom, fiind insensibili la agoniştii şi antagoniştii receptorilor AT_1 şi AT_2. Doar angiotensina III (2–8) exercită o slabă acţiune stimulatoare, realizată pe calea activării guanilatciclazei şi formării de GMP ciclic de către NO [23].

Receptorii AT_4 prezintă afinitate specifică pentru ang. IV (3–8), ca produs de degradare a ang. II. Aceştia sunt prezenţi în numeroase ţesuturi (cord, vase, creier, rinichi, ficat, plămân, uter). În creierul de cobai, receptorii AT_4 sunt concentraţi în hipocampus şi ariile corticale asociate cu memoria şi funcţiile senzitivo-motorii. Receptorii AT4 sunt prezenţi, de asemenea, în celulele endoteliale şi musculatura netedă vasculară, cu rol posibil în controlul tonusului vascular bazal [62] şi al fibrinolizei [116].

Descoperirea ang. 1-7, lipsită de proprietăţile vasoconstrictoare, aldosterono-eliberatoare şi dipsogene ale ang. II, a fost urmată de identificarea receptorilor specifici acesteia [152].

Spre deosebire de celelalte angiotensine biologic active, ang. (1–7) rezultă din metabolizarea ang. I sau II la nivelul endoteliului vascular, posedă proprietăţi vasodilatatoare şi antihipertensive neinfluenţate de blocanţii receptorilor AT_1 şi AT_2. Acestea sunt inhibate de indometacin şi blocate de antagonistul specific d-Ala^7-Ang (1–7) [131]. La producerea efectelor vasodilatatoare ale ang. (1–7) realizate prin intermediul unui receptor specific participă atât prostaglandinele şi bradikinina, cât şi oxidul nitric [16], asigurând un veritabil mecanism de contracarare a acţiunilor presoare, hiperplazice şi hipervolemice ale ang. II active. Intensificând formarea de prostaglandine, kinine plasmatice şi oxid nitric ale căror

Scanned with OKEN Scanner

proprietăți miorelaxante sunt cunoscute, ang. (1–7) limitează efectele vasoconstrictoare ale ang. II (figura 5.9.).

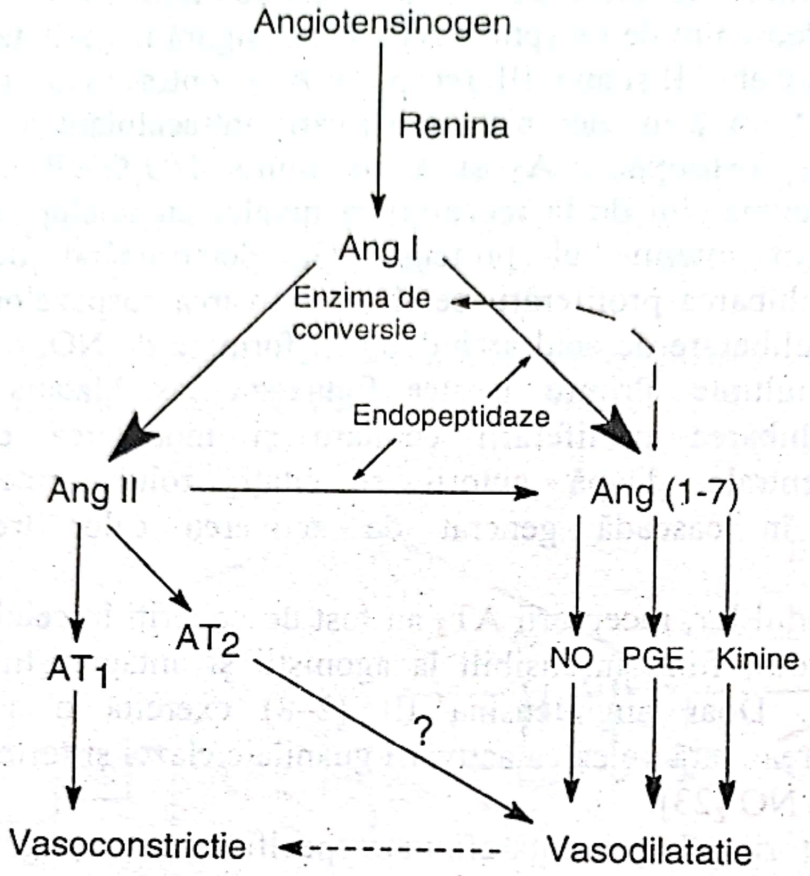


Figura 5.9. Angiotensina 1-7 ca factor de contracarare a efectelor vasculare ale ang. II.

La acest mecanism indirect de tip feed-back negativ, se adaugă inhibarea de către ang (l–7) a enzimei de conversie [118], ca factor de limitare a sintezei de ang. II, principala angiotensină prevăzută cu proprietăți hipertensive. Pe această dublă cale a formării și modulării acțiunilor fizio-farmacologice ale ang. II presoare, ang. (1–7) pare să contribuie la contrareglarea proprietăților hipertensive ale SRA.

5.4. SRA DIN CORD ȘI VASE

Numeroase dovezi experimentale au demonstrat în ultimii 20 de ani existența tuturor componentelor SRA la nivelul aparatului cardiovascular. Prezența reninei, angiotensinogenului și enzimei de conversie în cord și vase a fost dovedită atât biochimic și farmacologic, cât și cu tehnici moderne de biologie moleculară. La nivel cardiac, s-a precizat că având toate componentele necesare biosintezei locale de ang. II activă (angiotensinogen, renină, enzimă de conversie), sistemul renină-

Scanned with OKEN Scanner

angiotensină (SRA) intrinsec este funcțional independent de SRA circulant. Ca principal peptid biologic activ, angiotensina II cardiacă modulează funcțiile inotropă și cronotropă ale miocardului normal și totodată contribuie la autoreglarea fluxului sanguin coronarian. Activitatea sa locală poate fi doar modulată de anumite dezechilibre metabolice și fiziologice, ca restricția sodată sau fenomenele de predominanță simpatică. Afectând expresia genică a ARN mesager specific reninei, angiotensinogenului sau enzimei de conversie, acestea pot determina creșteri ale activității SRA cardiac, cu consecințe morfofuncționale și clinice importante (hipertrofie ventriculară stângă, insuficiență cardiacă, hipertensiunea arterială etc.). Pe aceste baze s-a atribuit SRA cardiac rol de sistem hormonal paracrin și autocrin, denumit recent și intracrin [30].

5.4.1. SISTEMUL RENINA-ANGIOTENSINĂ CARDIAC

Cercetările privind renina cardiacă încep cu detectarea radioimunologică în omogenatele cordului de câine a unei activități renin-like, neinfluențate de către binefrectomie [71]. Pentru a se exclude o posibilă preluare și stocare a reninei circulante de către mușchiul cardiac, s-a trecut la studiul expresiei genice a acesteia, constatându-se că miocardul de șobolan și șoarece conține ARN mesager specific biosintezei sale locale în concentrații mai mici însă decât la nivel renal [38].

Activitatea ARNm specific reninei intracardiace a apărut stimulată, ca și în cazul celei renale, de către dezechilibrele ionice, agoniștii beta-adrenergici, nifedipină și hidralazină [39].

Renina din omogenatele de cord prezintă activitate proteolitică la pH identic (7,4) cu al reninei renale și este inhibată de anticorpii anti-renină.

Cardiomiocitele izolate de șobolan prezintă de asemenea o activitate enzimatică de tip reninic, al cărui ARN mesager și greutate moleculară sunt identice cu ale reninei de origine renală.

Distribuția genică a reninei cardiace este inegală, fiind mai mare în ventricule decât în atrii [150].

Utilizându-se anticorpi specifici antirenină s-a precizat că biosinteza acesteia are loc la nivelul cardiomiocitelor din întregul mușchi cardiac, și predomină la nivelul ventriculelor.

Pe culturi de cardiomiocite ventriculare prelevate de la șobolani Sprague-Dawley nou-născuți s-a constatat că și fibroblaștii prezintă colorație imunofluorescentă cu anticorpi antirenină [35], sugerând rolul acesteia în cursul dezvoltării.

O aspartilprotează de tipul catepsinei D a fost pusă în evidență în cordul de șobolan cu activitate renin-like formatoare de ang. I la pH 6, dar inactivă la pH-ul optim al reninei.

Scanned with OKEN Scanner

Întrucât 80% din activitatea renin-like a cardiomiocitelor este inhibată de anticorpi specifici anti-renină, majoritatea autorilor admit că renina reprezintă principala enzimă tisulară formatoare de ang. I la nivelul cordului.

O componentă circulantă a proreninei plasmatice a fost identificată la nivelul patului vascular coronarian uman [144]. La şobolanii cu hipertensiune arterială spontană, conţinutul în renină al ventriculilor este mai mare decât al congenerilor normotensivi [127].

La rândul lor, experimentele pe şoareci transgenici la care s-a introdus gena *ren-2d* umană, au oferit noi dovezi convingătoare în favoarea localizării intracardiace a ARNm reninic [52].

Prezenţa acestuia în concentraţii joase în cordul normal uman, dublată de absenţa reninei în miocardul cobailor nefrectomizaţi, sunt argumente pentru Danser şi colab. [28] în favoarea originii sale renale. Generarea cardiacă de Ang. I şi II ar depinde de capacitatea de captare şi stocare a reninei circulante secretate de rinichi. O proteină specifică de legare a reninei a fost identificată de autorii sus-citaţi la nivelul membranelor miocardice normale, de care depinde activitatea enzimei formatoare de ang. I şi angiotensinogenul cardiac. Sub influenţa enzimei de conversie din endoteliul coronarian şi fibrele miocardice s-ar realiza apoi transformarea ang. I în ang. II cardiacă. Astfel, biosinteza de angiotensine în cordul normal pare a fi independentă de participarea reninei circulante de origine renală. Sinteza locală de renină generatoare de angiotensine ar exista numai în condiţii patologice şi în timpul dezvoltării fetale.

5.4.2. ANGIOTENSINOGENUL

Ca unic substrat al activităţii enzimatice a reninei miocardice, angiotensinogenul se găseşte în cantităţi dozabile în tot miocardul, cu valori mai mari la nou-născut decât la adult. Spre deosebire de renină, angiotensinogenul predomină în atrii şi mai ales în atriul drept [89].

Concentraţia acestuia, deşi atinge doar 2-5% din valorile angiotensinogenului hepatic, este suficientă pentru a asigura biosinteza locală de angiotensină biologic activă. Informaţii asupra originii sale miocardice locale sau extracardiace, plasmatice, au fost oferite atât de determinarea expresiei genice a angiotensinogenului miocardic, cât şi în funcţie de ARNm specific pe inimi izolate şi perfuzate de şobolan privind cinetica sintezei şi secreţiei cardiace a acestuia.

ARNm specific angiotensinogenului cardiac este identic cu al celui hepatic [115]. Având localizare citoplasmatică difuză la nivelul cardiomiocitelor şi fibroblastelor miocardice, angiotensinogenul predomină în sectorul secretor al acestora.

Scanned with OKEN Scanner

Hormonii glucocorticoizi, estrogeni şi tiroidieni cresc conţinutul în ARNm al angiotensinogenului atât în atrii cât şi în ventricule. O marcată creştere a ARN mesager pentru angiotensinogen determină hipotrofia cardiacă de diferite grade şi cauze [90].

În afara biosintezei intracardiace locale, cercetările pe inimi izolate şi perfuzate de şobolan au evidenţiat o sursă extracardiacă a angiotensinogenului miocardic reprezentată de componenta plasmatică a acestuia. Eliberarea spontană a angiotensinogenului în efluentul sinusului coronar se realizează în două faze distincte. Într-o primă fază, eliberarea este abundentă, cu declin rapid, pentru ca în faza următoare aceasta să se stabilizeze la un nivel mai scăzut şi să se menţină constantă timp îndelungat. Întrucât dexametazonul, stimulator al biosintezei de angiotensinogen, creşte eliberarea din timpul fazei a doua, s-a conchis că această creştere se realizează pe seama sintezei şi secreţiei proprii a miocardului, în timp ce faza întâi corespunde fracţiei plasmatice sechestrate de miocard. Ambele componente sunt afectate de diversele stări patologice cardiace.

Clivarea structurii tetradecapeptidice a angiotensinogenului de către renina miocardică reprezintă prima etapă a cascadei enzimatice formatoare local de ang. I inactivă. La rândul său, transformarea decapeptidului ang. I în octapeptidul ang. II activă se realizează la nivelul cordului de către enzima de conversie şi chimază la om.

5.4.3. ENZIMA DE CONVERSIE CARDIACĂ

Clasic, se admite că transformarea ang. I inactive în ang. II se produce la nivelul muşchiului cardiac al mamiferelor sub influenţa enzimei de conversie. La şobolan aceasta este larg, dar neuniform distribuită la nivelul endocardului şi miocardului, cele mai mari concentraţii găsindu-se în atrii, valvule, ventricule şi endoteliul arterelor coronare [170]. Un rol important revine chimazei în cordul uman [161], a cărei activitate angiotensin-convertazică nu este influenţată de către inhibitorii enzimei de conversie.

Autoradiografic s-a precizat că atât cardiomiocitele, cât şi vasele coronare conţin cantităţi mari de enzimă de conversie. Sistemul de conducere sino-atrial şi atrio-ventricular este mai sărac sau chiar lipsit de enzimă. Ca şi renina şi angiotensinogenul, enzima de conversie are localizare predominant citoplasmatică asigurând sinteza intracelulară a ang. II active.

La rândul lor, cercetările cu radioliganzi specifici de tipul lizinoprilului marcat cu ^{125}I au precizat distribuţia inegală şi diferită a enzimei de conversie la nivelul cordului uman.

Scanned with OKEN Scanner

Spre deosebire de şobolan, al cărui ţesut cardiac este bogat în enzimă de conversie atât în cazul fibrelor miocardice, cât şi al endocardului şi vaselor coronare, cordul uman prezintă concentraţii relativ mari numai la nivelul cavităţilor cardiace. Fibrele miocardice sunt mai sărace în enzimă de conversie. Excepţie face doar atriul drept şi endoteliul arterelor coronare [174].

Cercetările privind expresia genică au stabilit că ARN mesager pentru enzima de conversia cardiacă este identic cu cel pulmonar. Intensitatea conversiei intracardiace ang. I în ang. II din cordul izolat şi perfuzat este de 7,2%. În afara formării de ang. II activă, enzima de conversie metabolizează o serie de polipeptide transformându-le în peptide inactive. Este cazul bradikininei, substanţei P, neurotensinei şi enkefalinei.

Celulele endoteliale ale endocardului conţin, de asemenea, enzimă de conversie care modifică substanţial conţinutul local în ang. II şi bradikinină, cu răsunet miocardic [137].

Astfel, implicaţiile cardiace normale şi patologice ale enzimei de conversie nu depind numai de efectele angiotensinei rezultate, ci sunt influenţate şi de metabolizarea acestor polipeptide. În plus, dovezi experimentale recente demonstrează că enzima de conversie nu este singura enzimă cardiacă responsabilă de conversia ang. I în ang. II.

O nouă enzimă de conversie a fost identificată în ventriculele prelevate de la pacienţi cu insuficienţă cardiacă la care s-a practicat transplant de cord. Acesta este o metaloprotează transmembranară prevăzută cu proprietăţi carboxipeptidazice de transformare a ang. I în ang. 1-9, pentru a o diferenţia de enzima de conversie clasică (ACE_1), i s-a dat denumirea de ACE_2 [33].

Studiul comparativ al structurii genomice ale celor două enzime de conversie a ang. I a precizat că genele specifice acestora provin prin duplicare dintr-un ancestor comun.

La rândul său, domeniul catalitic al ACE_2 este identic din punct de vedere a secvenţei aminoacizilor, în proporţie de 42% cu al ACE_1.

Ca şi ACE_1, ACE_2 are sediul predominant endotelial şi poate fi eliberată sub influenţa alterărilor membranare ale endoteliului vascular.

Spre deosebire ACE_1, ACE_2 se găseşte numai în vasele coronare umane şi epiteliul tubular renal.

Pe plan funcţional, ambele angiotensin-convertaze clivează ANG I la nivele diferite. În timp ce ACE_1 este o dipeptidază formatoare de ang II (1-8), ACE_2 îndepărtează un singur aminoacid (leucina), generând ang. 1-9; la rândul său, ang. 1-9 pare a fi un inhibitor endogen al ACE_1. Astfel, ang. 1-9 generată de ACE_2 ar participa la scăderea tonusului coronarian, ca urmare a reducerii biosintezei de ang II vasoconstrictoare de către ACE_1.

Scanned with OKEN Scanner

Aceiaşi autori atribuie ang. 1-9 rol de precursor al ang. 1-7 prevăzută cu proprietăţi vasodilatatoare. Prin intermediul acesteia, ACE_2 ar induce vasodilataţie locală pentru a menţine perfuzia miocardului în limite normale în condiţiile vasoconstricţiei sistemice generalizate produse de ang. II circulantă.

Descoperirea ACE adaugă noi dimensiuni potenţiale sistemului renină-angiotensină cardiac. Una dintre acestea este reprezentată de participarea ACE_2 la transformarea angiotensinei I inactive în ang. 1-9 ca precursor de ang. 1-7 vasodilatatoare. În felul acesta, ACE_2 contribuie prin intermediul ang. 1-9 la contracararea de către ang. 1-7 a proprietăţilor constrictoare şi hipertensive ale ang. II. Recent s-a demonstrat că ang. 1-7 îndeplineşte rol de modulator al SRA uman [126].

5.4.4. CHIMAZA

Plecând de la faptul că peste 75% din activitatea enzimatică angiotensin-formatoare a omogenatelor de ţesut cardiac uman nu era blocată de către inhibitorii enzimei de conversie, s-au întreprins cercetări sistematice asupra căii alternante de conversie a ang. I inactive în ang. II activă, precizându-se că enzima tisulară cardiacă inhibată de către chimostatin este chimaza [161].

Studiul comparativ al prezenţei cardiace a enzimei de conversie şi chimazei la câine, iepure, şoarece, şobolan, hamster şi om a evidenţiat următoarele:

– Ambele enzime angiotensin formatoare se găsesc în extractele membranare cardiace nu numai umane, ci şi în cele prelevate de la animalele de laborator studiate. Formarea ang. II de către enzima de conversie a fost mai mare în cordul de şoarece decât de iepure, câine, şobolan şi om. Activitatea formatoare de angiotensină a chimazei a fost din contră mai intensă în cordul uman decât la câine, iepure, şobolan, hamster, şoarece [5].

– Diferenţele de specie constatate confirmă rezultatele anterioare [161] privind predominanţa chimazei asupra enzimei de conversie în cazul cordului uman.

– Ca şi enzima de conversie, chimaza face parte din familia proteazelor implicate în hidroliza parţială a lanţurilor polipeptidice în oligopeptide biologic active de tip angiotensinic. Chimaza miocardică este o enzimă bazică cu localizare predominantă interstiţială. Imunoreactivitatea maximă a acesteia a fost găsită la nivelul granulelor mastocitare şi celulelor endoteliale cardiace. Heparina mastocitară îndeplineşte rol de cofactor activator al prochimazei [103] inactive în vederea transformării acesteia în chimază activă.

Scanned with OKEN Scanner

5.4.5. ACȚIUNI CARDIACE ALE ANGIOTENSINELOR

Angiotensina II rezultată din conversia ang. I stimulează atât direct receptorii angiotensinici membranari şi nucleari, cât şi indirect potențând efectele structurilor adrenergice locale eliberatoare de noradrenalină [161]. Pe această dublă cale, ang. II creşte contractibilitatea şi frecvența cardiacă şi totodată intensifică sinteza proteinelor miocardice determinând hipertrofia şi hiperplazia muşchiului cardiac.

Efectele sale cardiostimulatoare şi coronaroconstrictoare sunt consecința activării fosfolipazei C, hidrolizei fosfatidil-inozitolului bifosfat în DAG şi IP_3 eliberator de calciu citoplasmic, indispensabil contracției musculaturii cardiace. Pe de altă parte, DAG activează proteinkinaza C determinând atât fosforilarea proteinelor contractile, cât şi intensificarea expresiei genice generatoare de noi proteine celulare. Astfel, proprietățile cardiostimulatoare şi coronaroconstrictoare ale ang. II sunt dublate de o importantă acțiune trofică, proliferativă şi hiperplazică a muşchiului cardiac. Căile de producere ale ang. II cardiace şi efectele sale locale autocrine şi paracrine de tip proliferativ sunt prezentate în figura 5.10.

Inhibitorii enzimei de conversie determină nu numai efecte antihipertensive, ci şi regresia hipertrofiei miocardice din insuficiența cardiacă congestivă. La rândul lor, acțiunile fizio-farmacologice cardiace ale ang. II active se realizează prin intermediul receptorilor angiotensinici de tip AT_1 şi AT_2. Aceştia sunt larg distribuiți în atrii şi ventricole. Atât efectele inotrope şi cronotrope pozitive ale ang. II, cât şi stimularea proprietăților hipoplazice şi proliferative ale acesteia se produc cu participarea predominentă a receptorilor de tip AT_1. Rolurile receptorilor AT_2 la nivel cardiac sunt insuficient cunoscute. Se pare că receptorii AT_2 predomină la nou-născut şi că densitatea acestora scade progresiv la adulți, transformându-se în receptori AT_1. Prin mecanismul de transducție intracelulară sus menționat, receptorii respectivi determină răspunsurile specifice ale fibrelor miocardice la angiotensină.

În miocardul adulților, receptorii AT_2 se găsesc la nivelul cardiomiocitelor şi fibroblaştilor, prezentând o evidentă creştere a densității şi reactivității acestora în hipertrofia cardiacă, infarctul miocardic şi insuficiența cardiacă. Pe plan funcțional, dețin un rol important în contrabalansarea unor efecte ale ang. II mediate de receptorii AT_1, începând cu proprietățile coronaroconstrictoare şi sfârşind cu acțiunile proliferative şi fibrozante ale acesteia. Prin acest mecanism, receptorii AT_2 modulează tonusul bazal al vaselor coronare şi exercită efecte antitrofice şi antiproliferative, întregite de intensificarea apoptozei [113] în cazul receptorilor specifici angiotensinei 1-7, se realizează o evidentă coronarodilatație mediată de eliberarea prostaglandinelor, kininelor şi oxidului nitric [16]. Administrată în lichidul de perfuzie a cordului de

Scanned with OKEN Scanner

şobolan, ang. 1-7 nu afectează forţa de contracţie a acestuia, dar dublează efectul vasodilatator coronarian al bradikininei [2].

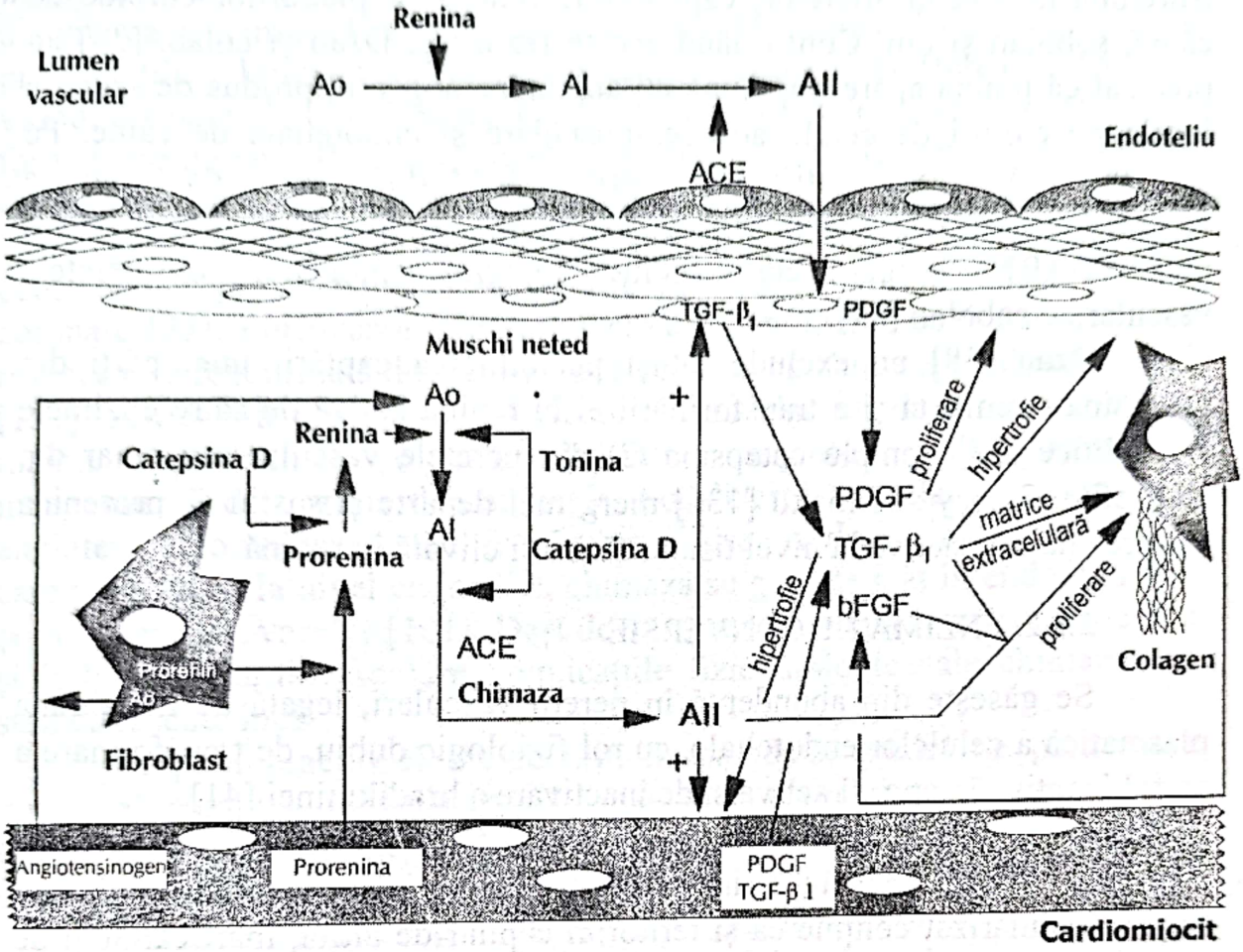


Figura 5.10. Căile de producere a angiotensinei II cardiace şi efectele autocrine şi paracrine ale acesteia [36].
Factori proliferativi şi de remodelare: PDGF – factorul plachetar de creştere; TGF-β_1 – factor de creştere tumoral; bFGF – factorul de creştere fibroblastic.

5.5. SRA VASCULAR

La nivel vascular atât musculatura netedă, cât şi celulele endoteliale conţin toţi factorii necesari sintezei locale de angiotensină [37].

5.5.1. Renina vasculară

Are origine dublă, plasmatică şi locală. Componenta plasmatică a acesteia a fost evidenţiată de London şi colab. [91] care au arătat că renina poate fi captată de pereţii vaselor sanguine din plasma circulantă.

Scanned with OKEN Scanner

La rândul lor, Ganten şi colab. [57], plecând de la faptul că nefrectomia nu suprimă renina plasmatică [71] au găsit cantităţi dozabile de isorenină la nivelul arterelor, capilarelor, venelor şi plexurilor coroide de câine, şobolan şi om. Confirmând aceste rezultate, Dzau şi colab. [38] au precizat că renina apare împreună cu angiotensinogenul, produs de secreţie locală pe culturi de celule aortice musculare şi endoteliale de câine. Pe această bază, autorii citaţi mai sus atribuie SRA din vase rol de sistem de control local autocrin şi paracrin. În sprijinul acestui punct de vedere vine şi prezenţa ARN mesager specific reninei şi angiotensinogenului din peretele vascular de şobolan [21].

Dzau [38] nu exclude totuşi posibilitatea captării unei părţi din prorenina circulantă şi a transformării ei în renină activă de către enzimele proteolitice (de exemplu catepsina G) din peretele vascular sau chiar din neutrofile. Sealey şi Ribattu [136] merg mai departe şi susţin că prorenina extrarenală este activă la nivel tisular fără a fi clivată în renină.

5.5.2. ENZIMA DE CONVERSIE

Se găseşte din abundenţă în pereţii vasculari, legată de membrana plasmatică a celulelor endoteliale, cu rol fiziologic dublu, de transformare a ang. I inactive în ang. II activă şi de inactivare a bradikininei [41].

În general, teritoriul endotelial arterial prezintă o activitate angiotensin-convertazică mai intensă decât endoteliul venos. Plămânul fiind bogat vascularizat conţine ca şi teritoriul capilar de altfel, mari cantităţi de enzimă de conversie. Hipoxia, deşi creşte conversia ang. I în ang. II, atenuează efectele vasoconstrictoare ale acesteia [156].

La rândul său, rinichiul uman depăşeşte plămânul din punct de vedere al conţinutului în enzimă de conversie pe unitatea de greutate. Cu ajutorul anticorpilor policlonali s-a stabilit că enzima de conversie se găseşte nu numai în endoteliul vascular, ci şi în celulele epiteliale şi neuroepiteliale. În afara formei legate de membranele plasmatice, enzima de conversie apare şi în stare solubilă în plasma sanguină, urină, lichid amniotic, LCR şi plasma seminală. Între forma legată şi cea solubilă nu par să existe diferenţe de structură şi afinitate specifică. Cercetările referitoare la expresia genică a enzimei de conversie au evidenţiat existenţa unei singure gene specifice în genomul uman. Fiind o metaloenzimă conţinătoare de zinc cu structură dipeptidilcarboxipeptidazică, enzima de conversie endotelială este glicozilată şi clor dependentă [142]. Activarea acesteia de către ionii de clor variază în funcţie de substratul asupra căruia acţionează. în timp ce conversia ang. I se realizează numai în prezenţa ionilor de clor, hidroliza bradikininei poate atinge 35% în absenţa acestora [41].

Scanned with OKEN Scanner

Posedând proprietăţi enzimatice nespecifice, enzima de conversie realizează atât sinteza de ang. II activă, cât şi proprietăţi kininazice inactivante de bradikinină, Inhibitorii enzimei de conversie reducând atât activitatea enzimatică formatoare de ang. II vasoconstrictoare, cât şi proprietăţile kininazice ale acesteia, produc creşterea efectelor vasodilatatoare ale bradikininei. Ca şi în cord, în vasele umane există o cale formatoare de ang. II activă independentă de enzima de conversie. Aceasta este mai puternic inhibată de chimostatin decât de către captopril [117].

Formarea de ang. II independentă de enzima de conversie a fost constatată iniţial la hamster în diferite teritorii vasculare inclusiv vasele coronare [27]. Purificarea şi caracterizarea biochimică a enzimei vasculare respective a fost urmată de identificarea acesteia cu chimaza cardiacă umană [151]. Astfel s-a precizat că şi teritoriul vascular prezintă la om, câine, maimuţă şi hamster o cale alternativă angiotensin II formatoare, independentă de enzima de conversie. Localizarea vasculară a celor două angiotensin-convertaze este diferită. Spre deosebire de enzima de conversie care predomină la nivel endotelial, chimaza se găseşte atât în endoteliul cât şi în adventicea vaselor [161]. Deşi devine predominantă în stările hipoxice şi ischemice cardiovasculare, implicaţiile fiziopatologice ale chimazei nu sunt cunoscute încă.

Pe plan funcţional s-a stabilit, deocamdată, gradul de participare numai al enzimei de conversie la realizarea diverselor stări patologice cardiace şi vasculare începând cu insuficienţa cardiacă congestivă şi sfârşind cu hipertensiunea reno-vasculară.

Blocarea sintezei locale de ang. II activă de către inhibitorii enzimei de conversie realizează reducerea hipertrofiei miocardice şi scăderea presiunii sanguine la hipertensivi, ca urmare a inhibării proprietăţilor trofice (hiperplazice) şi vasoconstrictoare ale acesteia, dublată de intensificarea acţiunilor vasodilatatoare ale bradikininei [86] (figura. 5.11.).

Cercetările efectuate pe inele vasculare izolate au stabilit că efectele vasoconstrictoare ale ang. II au la bază procese enzimo-chimice de fosforilare Ca^{++}-calmodulin dependentă a lanţului de miozină uşoară [119].

La efectele vasoconstrictoare ale ang II participă atât acţiunile α-adrenergice ale noradrenalinei cât şi eliberarea de endotelină de la nivelul endoteliului vascular

La rândul lor, studiile pe culturi de celule musculare aortice au arătat că ang. II exercită efecte trofice de tip proliferativ [9], ce contribuie la hiperplazia şi creşterea rezistenţei periferice la hipertensivi. Stimularea creşterii atât a cardiomiocitelor, cât şi a fibrelor musculaturii netede vasculare de către ang. II se realizează prin intermediul receptorilor AT_{1A} [104] ca inductori ai proto-oncogenei *c-fos* implicată în răspunsul proliferativ, cu participarea ionilor de calciu, proteinkinazei C şi cascadei enzimatice activatoare a sintezei proteice celulare [154].

Scanned with OKEN Scanner

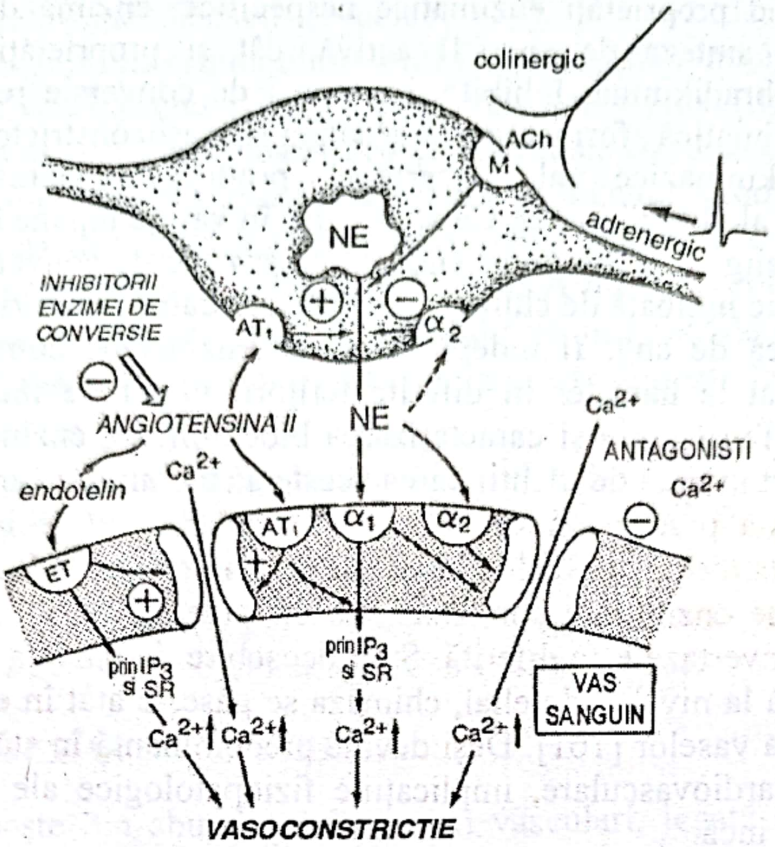


Figura 5.11. – Participarea mediației adrenergice şi colinergice la realizarea efectelor vasoconstrictoare ale angiotensinei [116].

Mecanismul prin care Ang. II creşte atât tonusul musculaturii netede şi cardiace, cât şi proliferarea celulară a fost explicat de Katz [82] (figura 5.12).

Fixarea ang. II pe receptorii membranei plasmatice stimulează enzima lipolitică membranară fosfolipaza C, printr-un mecanism mediat de cele trei subunități ale proteinei G.

La rândul său, fosfolipaza C hidrolizează fosfolipidul membranar PIP_2 (fosfatidil-inozitol-difosfat) pentru a forma IP_3 (inozitol-trifosfat) şi DAG (diacil glicerol).

Efectul presor al ang. II este determinat de capacitatea IP_3 de a elibera Ca^{2+} din depozitele membranelor interne celulare.

Creşterea Ca^{2+} citosolic este principalul factor inductor de contracție musculară netedă şi cardiacă.

Pe de altă parte, DAG rezultat din PIP_2 activează proteinkinaza C catalizatoare a fosforilării proteinelor în vederea activării împreună cu ionii de calciu a transcripției genice şi sintezei proteice inductoare de creştere celulară.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, ang. II realizează o triplă afectare a aparatului cardiovascular, începând cu consecinţele funcţionale presoare şi cardiostimulatoare şi sfârşind cu modificările biochimice, genetice şi hiperplazice.

La generarea sintezei vasculare de ang.II pare să contribuie şi o altă enzimă tisulară, în afara enzimei de conversie şi chimazei [111]. Indiferent de calea enzimatică de formare, angiotensina rezultată exercită efecte vasculare directe şi indirecte multiple, generatoare de reacţii vasoconstrictoare şi hiperplazice de diferite grade. Pe calea indirectă a activării sintezei endoteliale de prostacicline, angiotensinele pot determina în unele teritorii vasculare efecte vasodilatatoare secundare [172]. Recent. s-a demonstrat că ang. II şi mai ales ang. (1-7) activează NOS endotelială determinând eliberarea NO, ca stimulant al guanilatciclazei formatoare de GMP ciclic miorelaxant [96].

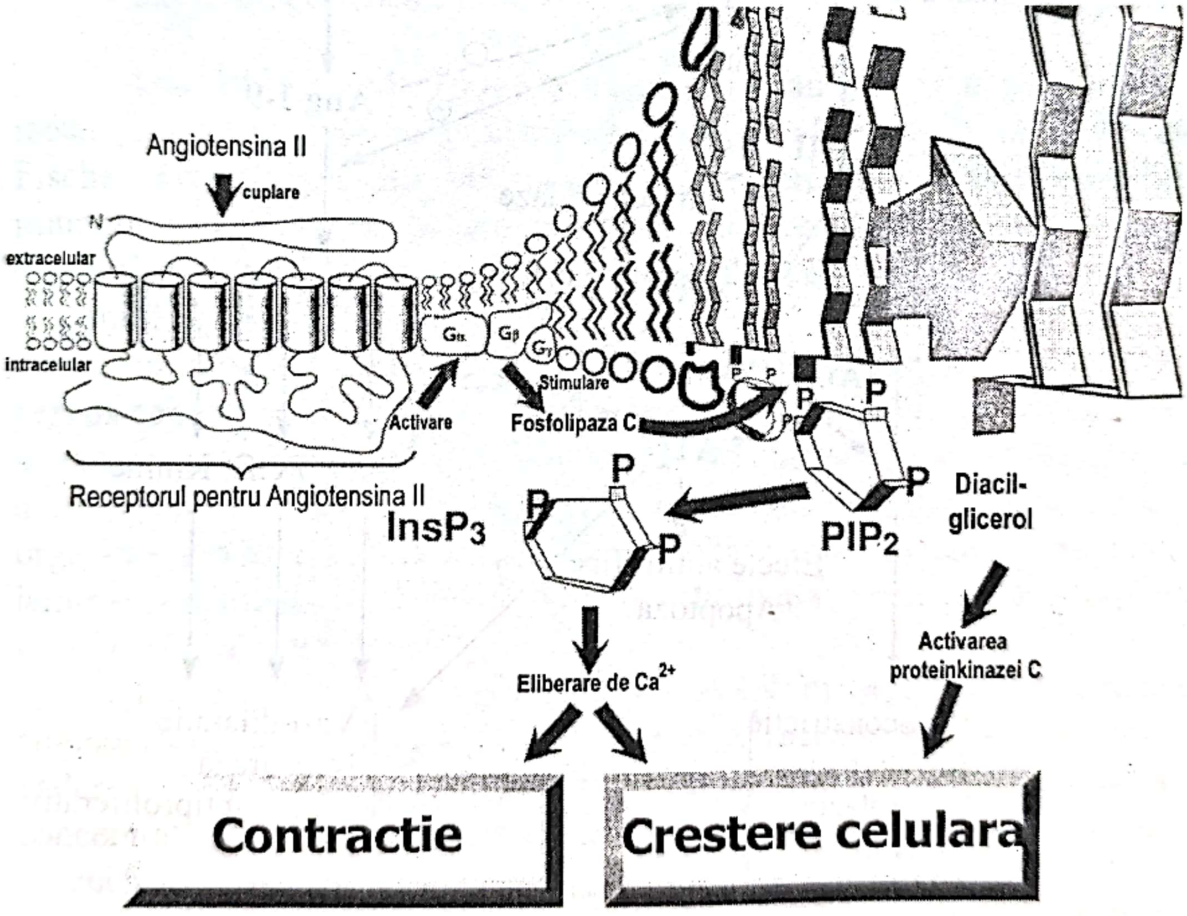


Figura 5.12. Mecanisme de stimulare a creşterii fibrelor miocardice şi vasculare de către ang. II [82].

După datele noastre experimentale, ang. II activând fosfolipaza C şi sinteza de IP_3, determină eliberare de calciu din cisternele terminale ale reticulului citoplasmatic, ca activator al NOS formatoare de NO

Scanned with OKEN Scanner

miorelaxant. La rândul său, NO modulează în sens inhibitor receptorii angiotensinici, realizând un veritabil feedback negativ asupra efectelor vasoconstrictoare ale angiotensinei (figura 5.13).

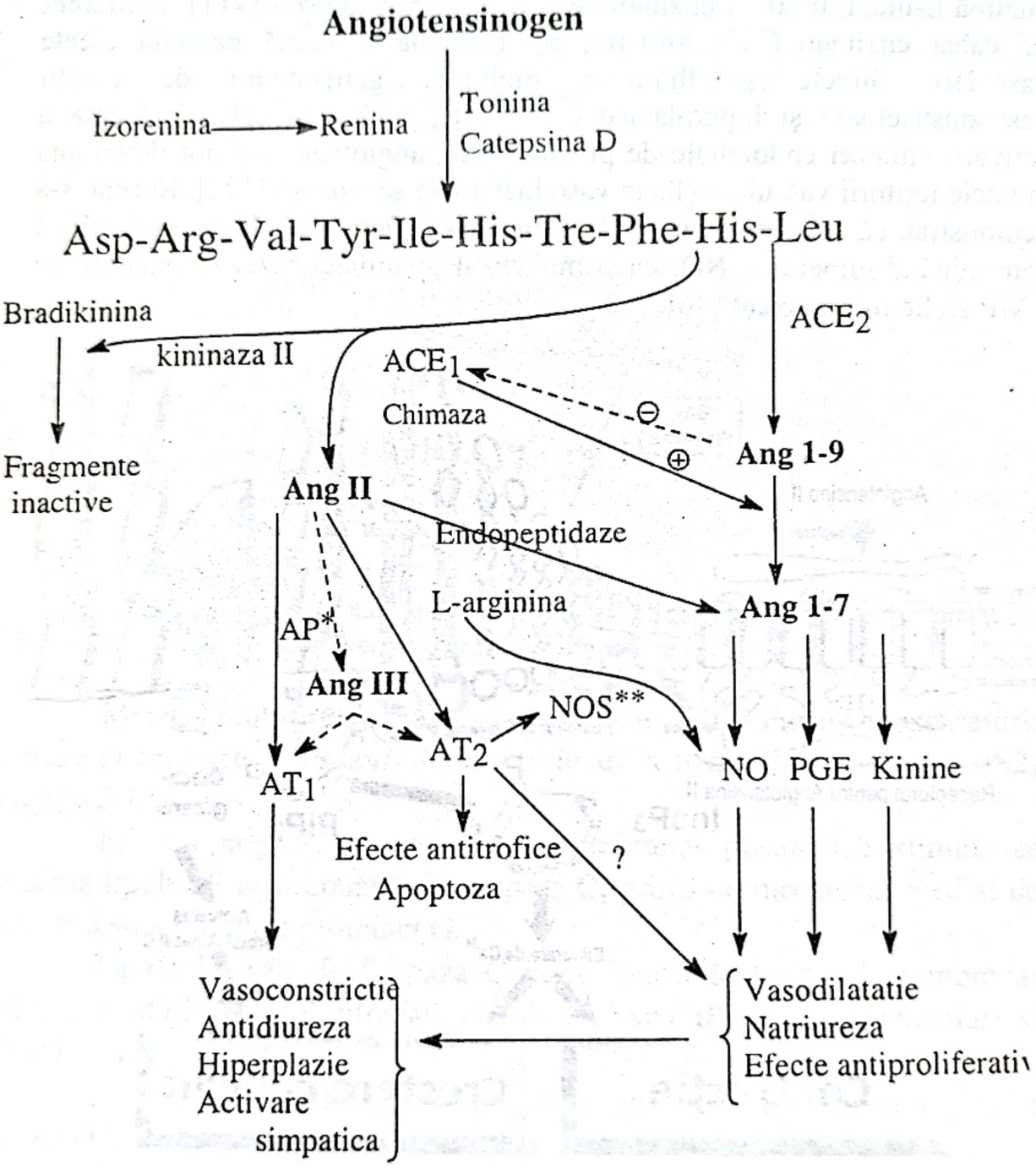


Figura 5. 13. Căi alternante ale formării angiotensinelor biologic active şi relaţiile lor funcţionale de tip antagonic

Studiul comparativ al proprietăţilor vasoconstrictoare ale ang. II şi a produşilor săi de degradare a precizat că ang. III este de 4 ori mai puţin activă decât ang. II, în timp ce ang. IV mai prezintă doar a mia parte din acţiunile vasculare constrictoare ale peptidului de bază [168].

Scanned with OKEN Scanner

Spre deosebire de ang. II şi derivaţii biologic activi ai acesteia, ang. 1-7 provoacă efecte miorelaxante şi vasodilatatoare prin mecanismul indirect atât al eliberării endoteliale de prostaglandine, oxid nitric şi kinine plasmatice cât şi a inhibării enzimei de conversie [126].

Rezultată din clivarea ang. 1-9 de către enzima de conversie, ang. 1-7 este considerată de majoritatea autorilor [15,48,131] principalul modulator tisular al sistemului renină-angiotensină uman, în vederea menţinerii tonusului vascular normal.

5.6. SRA DIN CREIER ŞI GLANDELE ANEXE ENDOCRANIENE

5.6.1. SRA cerebral

Din 1971, când Ganten şi colab. [57] au semnalat prezenţa unei izoenzime a reninei din creierul de câine, confirmată în acelaşi an de Fischer, Ferrario şi colab. [48] la şobolan, numeroase cercetări biochimice, imunohistochimice şi radioimunologice au precizat distribuţia cortico-subcortico-spinală a componentelor sistemului renină-angiotensină (SRA) cerebral la mamifere şi om.

În timp ce angiotensinogenul este larg distribuit în întreg ţesutul nervos central, cu localizare predominant astrocitară [149], renina şi enzima de conversie se găsesc mai ales la nivelul structurilor nervoase subcorticale mezencefalo-diencefalice, începând cu aria septală, nucleii hipotalamici şi organele circumventriculare (organul subfornical, organul vascular al laminei terminale, etc.) şi sfârşind cu formaţia reticulată bulbo-ponto-mezencefalică [110].

La rândul lor, determinările de ARN mesager specific reninei, angiotensinogenului, enzimei de conversie şi receptorilor angiotensinei în vederea precizării expresiei lor genice au confirmat existenţa acestora în concentraţii variabile la nivelul diverselor structuri nervoase centrale, independente de SRA circulant [88].

În timp ce angiotensinogenul secretat de astrocite se găseşte în cantităţi mari în LCR, renina cerebrală este sintetizată şi la nivelul plexurilor coroide, pentru a fi preluată şi utilizată de către neuronii adiacenţi la biosinteza locală de angiotensine intra şi extraneuronale. Angiotensina II, ca principal neuropeptid efector, a fost detectată imunohistochimic atât în spaţiile extracelulare, cât şi la nivelul pericarionului neuronal şi fibrelor nervoase, cu concentraţie maximă în butonii terminali (figura 5.14).

Scanned with OKEN Scanner

În primul caz, angiotensina II realizează difuzia semnalelor chimice şi electrotonice extracelulare, asigurând transmiterea volemică, iar în cel de-al doilea caz, participă ca principal neurotransmiţător specific al unor sinapse interneuronale centrale [20].

În unele zone, imunoreactivitatea la Ang. II şi ARN mesager pentru renină sau angiotensinogen nu se însoţeşte de prezenţa enzimei de conversie, sugerând posibilitatea participării altor enzime (tonină, catepsină, chimază) la transformarea angiotensinei I inactive în Ang. II ori fragmente active ale acesteia.

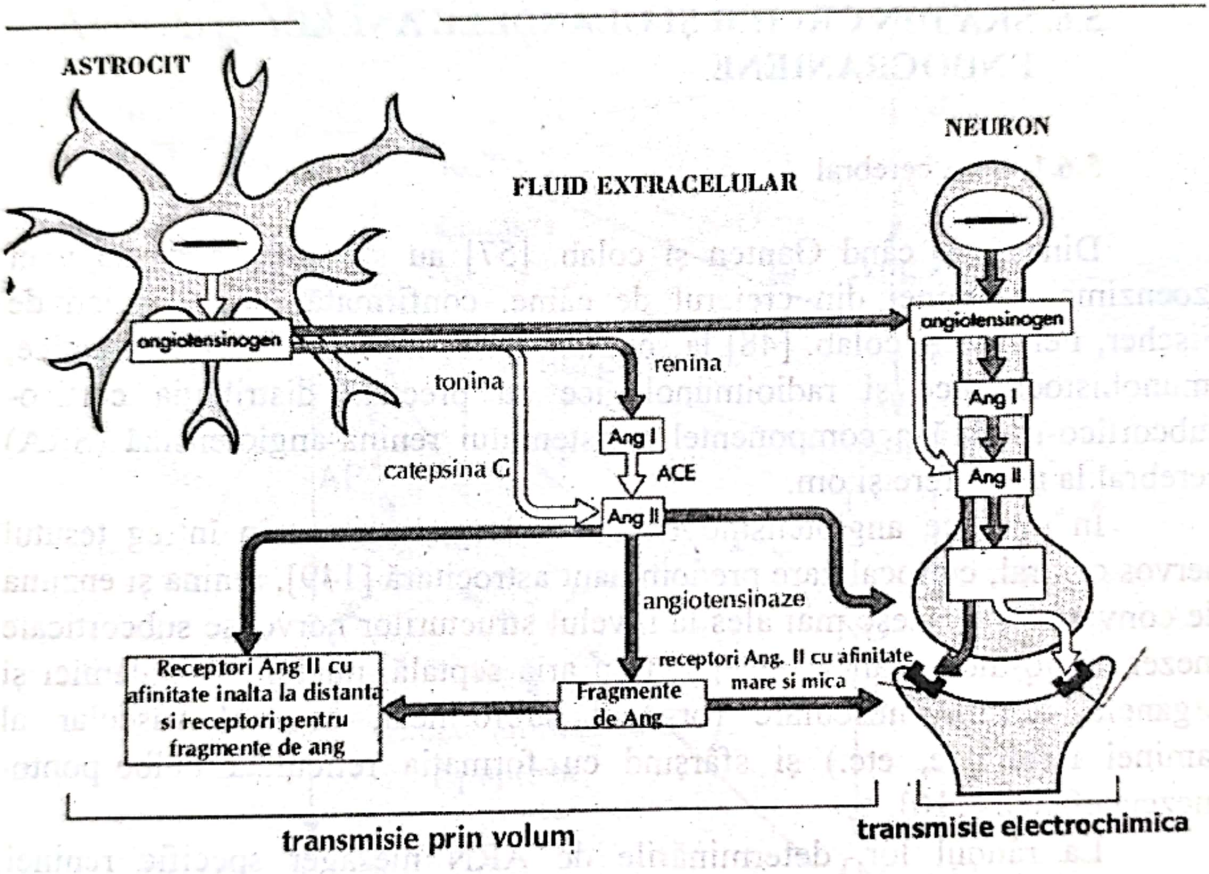


Figura 5.14. Prezenţa SRA la nivel intra- şi interneuronal [20].

Distribuţie. Spre deosebire de scoarţa cerebrală, care conţine cantităţi mici de angiotensinogen, renină şi enzimă de conversie, structurile subcorticale sunt bogate în fibre nervoase formatoare sau receptoare de Angiotensină II activă. O bună corelare între fibrele angiotensinergice imunoreactive şi receptorii angiotensinici identificaţi autoradiografic cu ajutorul liganzilor specifici a fost evidenţiată în aproximativ 40 de zone cerebrospinale, pledând pentru rolul de mediator chimic al angiotensinei sau de simplu neuromodulator al transmiterii sinaptice clasice. Localizarea zonală a fibrelor nervoase angiotensinergice este prezentată în figura 5.15.

Scanned with OKEN Scanner

Nucleii amigdalieni conţin toate componentele SRA, mai puţin receptorii specifici de la nivelul nucleului interstiţial al striei terminale. După Fitzsimons [51], angiotensina II ar stimula nucleul amigdalian central, contribuind la efectele dipsogene ale acestuia. La rândul lor, fibrele angiotensinergice de la nivelul ariei septale ar asigura transmiterea informaţiilor dipsogene de la organul subfornical circumventricular la nucleul paraventricular din hipotalamusul anterior, secretor de hormon antidiuretic.

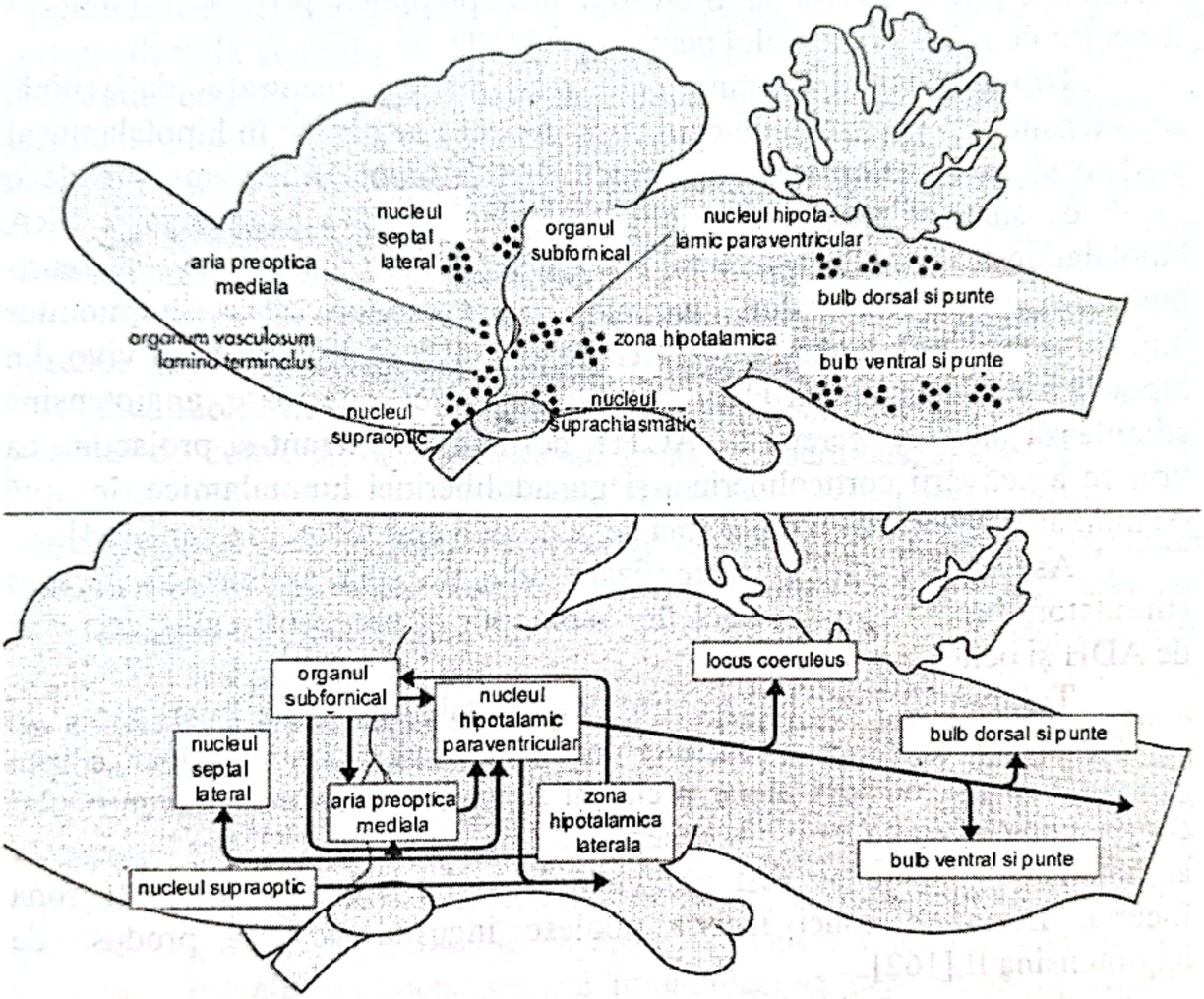


Figura 5.15. Distribuţia fibrelor angiotensin II imunoreactive la nivelul diverselor structuri subcorticale [110].

Hipocampusul şi căile nigro-striate conţin atât enzime formatoare de angiotensină II, cât şi receptori angiotensinici [140]. Aplicarea microiontoforetică a angiotensinei II la acest nivel inhibă neuronii dopaminergici ai căii nigro-neostriate.

Imunoreactivitatea la Ang. II a corpilor striaţi umani recoltaţi de la pacienţi cu demenţă senilă de tip Alzheimer a evidenţiat o reducere până la dispariţie a neuronilor şi fibrelor nervoase de la nivelul nucleilor globus pallidus şi putamen. Fenomene similare s-au constatat şi la nivelul

Scanned with OKEN Scanner

hipocampusului uman [132]. Pe această bază s-a emis ipoteza participării Ang. II cerebrale la producerea tulburărilor demenţiale ale vârstnicilor.

Aria preoptică este, de asemenea, una din zonele bogate în angiotensinogen, renină, enzimă de conversie şi fibre imunoreactive angiotensinergice, ce se extind spre organul subfornical şi nucleii hipotalamusului lateral şi ventromedian. Distrugerea lor aboleşte atât ingestia de apă, cât şi efectele presoare ale administrării locale de angiotensină. Un alt rol al SRA din aria preoptică priveşte stimularea eliberării de ADH şi apetitului pentru sare [153].

Hipotalamusul conţine cele mai mari concentraţii de renină, angiotensinogen şi enzimă de conversie. Acestea se găsesc în hipotalamusul median şi nucleii neurosecretori anterolaterali hipotalamici, însoţite de o înaltă densitate a receptorilor angiotensinici. Funcţia principală a SRA hipotalamic constă în activarea secreţiei de hormoni adeno- şi retro-hipofizari prin intermediul nucleilor neurosecretori şi a hormonilor hipofizotropi hipotalamici. Eliberarea de ang. II a fost obţinută in vivo din hipotalamusul de şobolan [16]. În cazul hipofizei anterioare, angiotensina stimulează indirect secreţia de ACTH, hormon luteinizant şi prolactină ca urmare a activării corticoliberinei şi gonadoliberinei hipotalamice, însoţită de inhibarea eliberării de dopamină de la nivelul eminenţei mediane [54].

Asupra secreţiei retrohipofizare, angiotensina acţionează în sens stimulator, direct la nivelul nucleilor supraoptic şi paraventricular, secretori de ADH şi ocitocină.

Talamusul, spre deosebire de hipotalamus, este mai sărac în componentele necesare biosintezei locale de angiotensină. Doar corpul geniculat intern, nucleul olivar pretectal şi nucleul talamic paraventricular conţin angiotensinogen şi receptori angiotensinici. Fibre nervoase angiotensinergice nu au fost găsite decât în nucleii subtalamici şi zona incerta. Leziunile zonei incerta abolesc ingestia de apă produse de angiotensina II [162].

Aria septală şi îndeosebi nucleii septal median, orizontal şi vertical conţin atât angiotensinogen, cât şi fibre imunoreactive angiotensinergice. Injectarea angiotensinei II la nivelul septumului produce, ca şi în cazul ariei preoptice, comportament dipsogen şi eliberare de vasopresină la maimuţă [140]. O evidentă interacţiune pare să existe între angiotensina II şi sistemul dopaminergic, întrucât administrarea intracerebroventriculară a acesteia creşte nivelul dopaminei centrale.

Ganglionii bazali prezintă o concentraţie ridicată a enzimei de conversie în nucleii striaţi, dublată de neuroni imunoreactivi angiotensinergici. Injectată în nucleul accumbens, induce dipsogeneză şi eliberare atât de dopamină, cât şi de prostaglandine E [13]. O posibilă

Scanned with OKEN Scanner

implicare a SRA din neostriat în procesele de memorare a fost sugerată de activarea comportamentului învăţat de către angiotensina II injectată local.

Mezencefalul conţine ARN mesager specific angiotensinogenului atât în stratul cenuşiu superficial al coliculului superior, cât şi la nivelul nucleului interfascicular şi substanţa periapeductală centrală. Enzima de conversie predomină în nucleul interfascicular şi mai ales în porţiunea reticulată a substanţei nigra. Corpi celulari şi fibre imunoreactive angiotensinergice se găsesc în nucleul peripeduncular şi substanţa nigra periapeductală centrală. Receptorii angiotensinici prezintă o densitate mare în stratul cenuşiu superficial al coliculului superior şi corpului geniculat median.

Componentele mezencefalice ale SRA cerebral par a fi implicate în dipsogeneză, deoarece administrarea angiotensinei II în substanţa cenuşie centrală provoacă ingestie de apă [85].

Puntea este bogată atât în angiotensinogen, cât şi în fibre imunoreactive angiotensinergice şi receptori specifici situaţi în mod predominant la nivelul nucleului senzitiv al trigemenului şi în locus coeruleus. Activitatea enzimei de conversie apare evidentă în locus coeruleus, nucleii pontin şi parabrahial. Singurele zone care conţin fibre angiotensinergice şi receptori angiotensinici sunt nucleul parabrahial lateral şi locus coeruleus, unde angiotensina II activează căile descendente simpatice şi deprimă efectele depolarizante ale glutamatului [169]. Nucleul parabrahial lateral pare a fi implicat în setea indusă de angiotensina II.

Bulbul prezintă o mare densitate a tuturor componentelor SRA cerebral detectate imunohistochimic şi autoradiografic la nivelul nucleilor dorsal al vagului, tractusului solitar, vestibular şi olivar inferior. Neconcordanţe topografice au fost constatate la nivelul nucleilor nervului hipoglos cuneat şi vestibular, în care concentraţiile relativ mari de ARNm specific angiotensinogenului se însoţesc de valori mici ale enzimei de conversie. Fibrele angiotensinergice imunoreactive predomină în nucleul tractusului solitar, nucleul dorsal al vagului şi substanţa gelatinoasă a trigemenului. O înaltă densitate a fost constatată în numeroşi nuclei bulbari: nucleii tractusului solitar, dorsal al vagului, olivei inferioare şi trigemenului bulbo-spinal. Prin intermediul şi cu participarea unora dintre aceştia (nucleul dorsal al vagului şi al tractusului solitar, oliva inferioară) se realizează inhibarea reflexelor baroreceptoare şi activarea căilor nervoase simpatice din timpul efectelor presoare centrale ale angiotensinei [18]. O participare a catecolaminelor cerebrale la efectele presoare centrale ale angiotensinei II a fost demonstrată de numeroşi autori [8,54,123]. Blocantele alfa-adrenergice inhibă răspunsul presor al angiotensinei II fără a influenţa dipsogeneza.

Scanned with OKEN Scanner

Prin intermediul căilor vegetative eferente, SRA cerebral realizează reacţii neurohormonale multiple care întregesc efectele angiotensinei circulante şi tisulare (figura 5.16.).

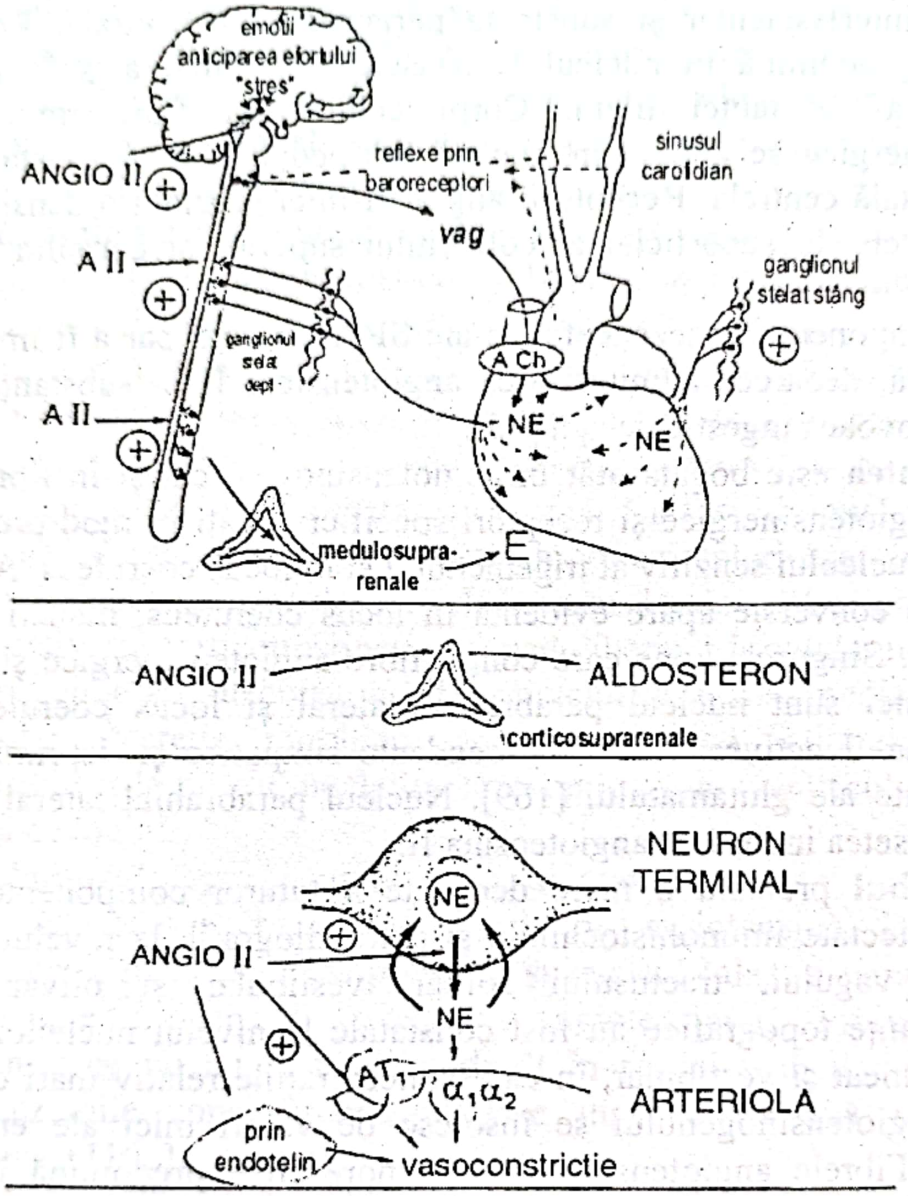


Figura 5.16 Efecte centrale şi periferice ale angiotensinei [116].

O mare parte din fibrele angiotensinergice ale trunchiului cerebral descind fie în coloana intermediolaterală a măduvei cervico-dorsale în vederea activării neuronilor simpatici de la acest nivel, fie spre substanţa gelatinoasă a cornului posterior pentru a modula reactivitatea căilor aferente medulare.

Fibre angiotensinergice medulare au fost detectate imunohistochimic atât în straturile I şi II Rexed ale cornului posterior cât şi în coloana intermediolaterală a măduvii cervico-dorso-lombare [88]. Receptorii angiotensinici identificaţi autoradiografic predomină de asemenea în

Scanned with OKEN Scanner

straturile superficiale (I şi II Rexed) ale cornului dorsal şi coloana intermediolaterală [165].

Cerebelul se particularizează prin concentraţiile mari ale ARN mesager pentru angiotensinogen şi enzima de conversie numai în stratul granular de celule Purkinje. Cortexul cerebelar nu conţine fibre angiotensinergice imunoreactive decât la nivelul stratului molecular. Funcţiile SRA din cerebel sunt necunoscute. S-a emis ipoteza deprimării ritmului de descărcare a celulelor Purkinje prin mecanismul potenţării acţiunilor inhibitorii ale acidului gamma-amino-butiric [158].

Organele circumventriculare, reprezentate de organul subfornical (OSF), organul vascular al laminei terminale (OVLT), aria postrema şi eminenţa mediană a hipotalamusului prezintă o densitate mare de fibre nervoase şi receptori angiotensinici [129]. Fiind situate în afara barierei hematoencefalice, organele circumventriculare sunt afectate şi de angiotensina II circulantă, realizând reacţii presoare şi ingestie de apă. Lezarea acestora diminuă sau aboleşte efectele administrării periferice şi centrale ale angiotensinei.

Spre deosebire de efectele vasculare presoare care se produc cu participarea vasopresinei şi căilor descendente simpatice, acţiunea dipsogenă se realizează prin intermediul OSF şi OVLT, însoţită de inhibiţia centrală a secreţiei de aldosteron [123]. La rândul său, organul subcomisural este ţintă predominantă şi pentru angiotensina II circulantă. Nivelul componentelor SRA din creierul de şobolan este prezentat în următorul tabel (tabelul 5.4.).

Lichidul cefalorahidian conţine concentraţii mici de renină, deşi este secretată din abundenţă de către plexurile coroide. În schimb, angiotensinogenul şi enzima de conversie au fost identificate radioimunologic atât în LCR, cât şi în plexurile coroide alături de renină [133]. Injectată i.c.v., renina provoacă efecte presoare similare cu ale angiotensinei II active, suprimate de antagoniştii enzimei de conversie, sugerând existenţa întregii cascade enzimatice formatoare de angiotensină II în LCR [18]. La rândul său, angiotensina II prezintă valori aproximativ egale cu ale celei din plasmă. Acţiunea acesteia se exercită atât asupra receptorilor specifici de la nivelul plexurilor coroide contribuind la reglarea formării de LCR, cât şi a formaţiunilor nervoase periependimare prevăzute cu receptori angiotensinici. Aceştia aparţin în majoritatea cazurilor tipului AT_1. Prin intermediul lor, angiotensina II contribuie la autoreglarea presiunii sanguine şi a balanţei hidrosaline. În cazul reglării hidroelectrolitice un rol important revine activării secreţiei de hormoni

Scanned with OKEN Scanner

retrohipofizari de către SRA cerebral. La rândul său, reglarea cardiovasculară beneficiază de efectele presoare ale angiotensinei II circulante şi cerebrale ca urmare a stimulării ariei postrema şi structurilor simpaticoadrenergice centrale, însoţite de activarea secreţiei de ADH hipofizar [50]. Şobolanii cu hipertensiune arterială spontană prezintă o hiperactivitate a SRA cerebral [55]. La realizarea efectelor centrale ale angiotensinei II participă şi unele fragmente biologic active ale acesteia, cum sunt angiotensina III, angiotensina IV şi chiar angiotensina 1-7. Angiotensina III, de pildă, este considerată adevăratul efector al angiotensinei II la nivelul unor structuri cerebrale. Pe de altă parte, angiotensina IV pare implicată în activarea proceselor neurochimice de memorare şi învăţare [13]. În cazul angiotensinei 1-7 s-au evidenţiat efecte stimulatoare asupra eliberării de vasopresină [134]. Fragmentul 1-9 al ang. I posedă proprietăţi dipsogene [24], iar ang. 2-10 modulează efectele presoare ale angiotensinelor II şi III [87].

Rezumând, se poate afirma că distribuţia componentelor SRA în sistemul nervos central şi acţiunile sale fiziofarmacologice la nivelul diverselor structuri cortico-subcortico-spinale oferă suficiente dovezi experimentale în sprijinul prezenţei şi implicaţiilor funcţionale normale şi patologice ale acestui sistem neuropeptidic.

În comparaţie cu cercetările referitoare la SRA din formaţiunile nervoase centrale, prezenţa şi rolul său în glandele endocrine anexe sunt mai puţin studiate.

Tabelul 5.4. Prezenţa componentelor SRA la nivelul diverselor structuri cerebrale [19]

Localizare	Angiotensi-nogen (ARNm)	Enzimă de conversie	Angio-tensină II	Receptori angio-tensină II
Cortex amigdalian				
- nucleul median	+ +	+ +	+ + +	+ +
- nucleul central	-	+ +	+ +	-
- stria terminală	+ +	+	+	-
Aria septală				
- nucleul bandei Broca	+ +	+	+	-
- nucleul septal medial	+ +	+	+	-
- nucleul septal lateral	+	+ +	+	-
Regiunea preoptică				
- nucleul median	+ + +	+ +	+ + +	+ +
- aria preoptică laterală	+ +	+ +	+	+ +

Scanned with OKEN Scanner

Hipotalamus				
- nucleul supraoptic	+++	+++	+++	+++
- nucleul paraventricular	+++	+++	+++	+++
- nucleul periventricular	+++	+++	++	++
- nucleul suprachiasmatic	+++	++	+++	+++
- nucleul arcuat	+++	++	++	-
- nucleul dorso-median	+++	++	+	++
- nucleul mamilar	++	++	++	++
Talamus				
- nucleul geniculat median	+++	-	-	++
- zona incerta	++	++	+	-
- complexul nuclear ventral	+	+	+	+
- nucleul subtalamic	++	-	-	+++
Mezencefal				
- coliculul superior	+++	+	-	+++
- substanța nigra	++	+++	++	-
- substanța gri centrală	++	++	+	+
Puntea				
- locus coeruleus	+++	++	+	+++
- substanța gri centrală	++	++	+	-
Bulbul				
- nucleul tractusului solitar	+++	+	++	+++
- nucleul nervului hipoglos	+++	+	-	-
- nucleul dorsal al vagului	+++	+	++	+++
- nucleul olivar inferior	+++	++	++	++
- nucleul trigemenului	+	+	+	+
Organe circumventriculare				
- organul subfornical	+++	+++	++	+++
- aria postrema	++	+	++	++
- eminența mediană	+	+++	++	+++
- organul vascular al laminei terminale	+	+++	++	+++

Scanned with OKEN Scanner

5.6.2. SRA HIPOFIZAR

Primele dovezi experimentale privind existența unei activități renin-like în hipofiza de șobolan au apărut la scurt timp (1974-1975) după descoperirea izoreninei din creierul de câine [56]. Utilizând tehnici adecvate de separare și dozare a reninei cerebrale, colectivul nostru a determinat într-o primă etapă activitatea renin-like a scoarței fronto-parietale, hipotalamusului, trunchiului cerebral, hipofizei și glandei pineale recoltate de la șobolani Wistar adulți, întreținuți în condiții normale de laborator. O primă constatare a fost reprezentată de variațiile mari ale activității renin-like în funcție de formațiunea nervoasă sau glandulară studiată. Cele mai mari concentrații ale izoreninei cerebrale au fost găsite la nivelul glandei pineale și hipofizei, iar cele mai mici la nivelul scoarței cerebrale [63] (figura 5.17).

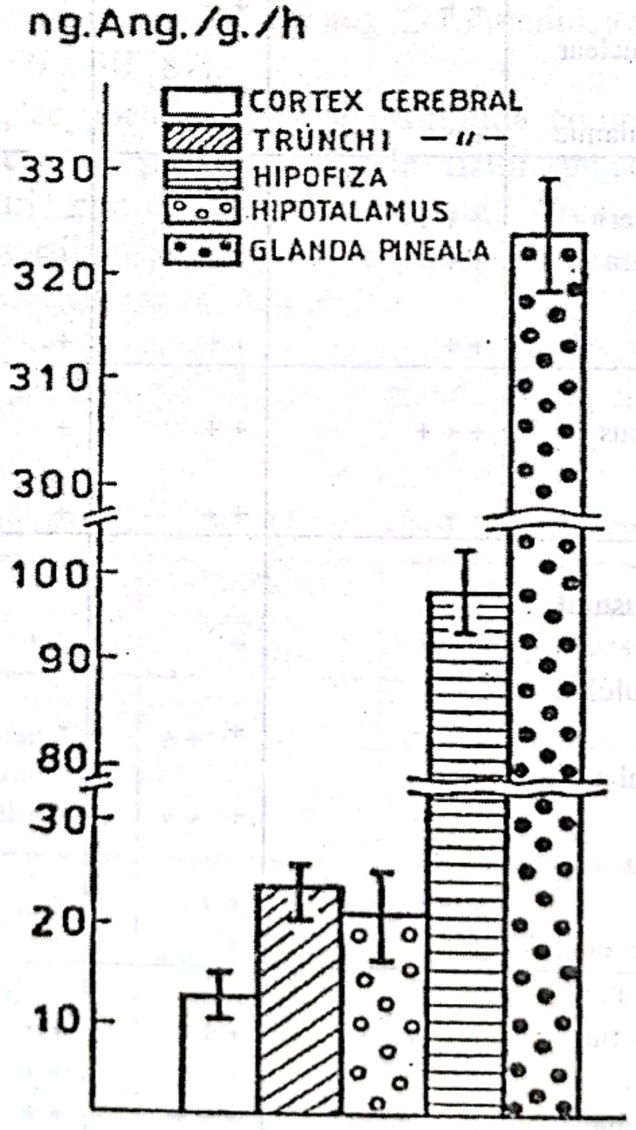


Figura 5.17. Activitatea renin-like din cortexul cerebral, hipotalamus și trunchi comparativ cu cea din hipofiză și glanda pineală.

Scanned with OKEN Scanner

Valori mari au fost constatate şi în cazul hipofizelor umane prelevate de la cadavre în primele ore de la deces [65].

Prezenţa reninei în glandele anexe endocraniene ale mamiferelor fiind confirmată ulterior imunohistochimic de Inagami şi colab. [76], Celio şi colab. [22], Hirose şi colab. [72], cercetările noastre au continuat pentru a vedea dacă suntem în prezenţa unui simplu fenomen de captare şi stocare a reninei circulante sau este vorba de o izoenzimă a reninei proprie ţesutului nervos şi glandular cerebral.

Experimentele efectuate pe animale binefrectomizate cu 12-24 de ore înaintea sacrificării şi dozării au evidenţiat o activitate renin-like cerebrală similară sau chiar mai intensă decât a lotului martor. Persistenţa activităţii renin-like după binefrectomie corelată cu faptul că renina circulantă de origine renală cu greutatea moleculară de 40 000 Da nu traversează bariera hematoencefalică, pledau în favoarea existenţei unui SRA intrinsec nu numai cerebral ci şi glandular endocranian. Ulterior, s-a precizat că activitatea renin-like din creierul şi glandele anexe endocraniene umane este diferită de a celorlalte proteaze cerebrale [97].

Cercetările privind prezenţa reninei din hipofiza mamiferelor au precizat predominenţa acesteia în lobul anterior. Retrohipofiza este mai săracă în renină decât adenohipofiza [65, 106]. În schimb, enzima de conversie se găseşte în cantităţi mai mari în retrohipofiză decât în adenohipofiză [25]. La rândul său, angiotensina II detectată în funcţie de afinitatea anticorpilor specifici, a fost evidenţiată în plexurile dense de fibre angiotensinergice de la nivelul organului subfornical şi nucleului paraventricular spre hipofiza posterioară secretoare de ADH [74].

Eliberarea ADH de către angiotensina II, semnalată de Bonjour şi Malvin [11] încă din 1970, este considerată ca unul din mecanismele prin care aceasta controlează homeostazia volemică în condiţiile hipovolemiei, pentru a reduce pierderea de apă pe cale renală şi a asigura creşterea şi menţinerea presiunii sanguine în limite normale. Efectul hipersecretor şi dipsogen al angiotensinei II are la bază stimularea organelor circumventriculare, hipofiza posterioară fiind lipsită de receptori angiotensinici. Lezarea organului subfornical şi laminei terminale diminuă sau aboleşte stimularea secreţiei de ADH şi ingestiei de apă de către angiotensină [141]. În afara activării căilor circumventriculare, angiotensina II sistemică stimulează nucleii preoptic şi paraventricular cu proiecţie dorsomediană medulară [46]. Prin intermediul acestora se realizează reacţiile reflexe reno-paraventriculare compensatoare indispensabile reglării neurohormonale hidroelectrolitice. Concomitent cu eliberarea de ADH, angiotensina II stimulează şi secreţia de oxitocină prin acelaşi mecanism indirect al activării căii eferente plecate de la nivelul organului subfornical

Scanned with OKEN Scanner

circumventricular la neuronii nucleului magnocelular hipotalamic [47]. Deshidratarea şi încărcarea sodată determină hipersecreţie nu numai de vasopresină, ci şi de oxitocină cu participarea angiotensinei II, ca principal modulator al secreţiei retrohipofizare.

Spre deosebire de hipofiza posterioară, lobul anterior al hipofizei conţine toate componentele necesare formării locale de angiotensină. Atât ARN mesager specific reninei şi enzimei de conversie, cât şi receptorii angiotensinici aparţinând subtipului AT_1, au fost identificaţi în celulele corticotrope, gonadotrope, lactotrope şi tireotrope hipofizare [129]. Astfel s-a precizat rolul modulator al angiotensinei II asupra secreţiei de hormoni retro- şi adenohipofizari. Spre deosebire de hipofiza posterioară a cărei secreţie de ADH şi oxitocină este stimulată şi de fragmentul 1–7 al angiotensinei II, hipofiza anterioară beneficiază în mod predominant de acţiunile modulatoare ale angiotensinei II formată local. Aceste acţiuni sunt integrate cu cele ale angiotensinei II circulante şi altor substanţe biologic active (hormoni hipofizari, endorfine, catecolamine, aldosteron etc.) prevăzute cu proprietăţi modulatoare ale secreţiei adenohipofizare fie direct fie indirect prin intermediul organelor circumventriculare din afara barierei hematoencefalice.

În cazul *ACTH*-ului, angiotensina II stimulează secreţia acestuia atât în condiţiile injectării pe cale intravenoasă cât şi a administrării i.c.v. În ambele cazuri, eliberarea ACTH-ului se realizează cu participarea CRF-ului hipotalamic [83]. O acţiune directă nu a fost exclusă, întrucât angiotensina II stimulează nu numai *in vivo,* ci şi *in vitro* secreţia de ACTH. Rolul principal revine însă CRF-ului eliberat de la nivelul eminenţei mediane a hipotalamusului în circulaţia portală în prezenţa angiotensinei. În condiţii de stres repetat, la stimularea secreţiei de ACTH de către angiotensina II participă şi căile neurohormonale existente între organul subfornical, nucleul paraventricular şi eminenţa mediană hipotalamică, bogate în receptori angiotensinici [159].

Inhibitorii enzimei de conversie administraţi i.c.v. deprimă răspunsul secretor de ACTH la stresul hemoragic. Factorul natriuretic atrial de asemenea inhibă efectele secretoare de ACTH şi catecolamine ale angiotensinei II [93].

La rândul lor, hormonii glucocorticoizi stimulaţi de ACTH-ul hipofizar cresc expresia genică a receptorilor angiotensinici din eminenţa mediană şi potenţează efectele dipsogene ale angiotensinei II, realizând un veritabil mecanism de feedback hipotalamo-hipofizo-adrenal.

Secreţia *prolactinei* (PRL) este influenţată în mod diferit de către angiotensină. Administrată central, angiotensina II în doze mici inhibă secreţia de prolactină, efect blocat de antagoniştii receptorilor

Scanned with OKEN Scanner

dopaminergici. Pe această bază s-a făcut presupunerea stimulării mediației chimice dopaminergice prevăzută cu proprietăți inhibitorii asupra secreției de prolactină, de către angiotensina administrată intracerebro-ventricular.

Efecte inverse de tip activator a secreției de prolactină s-au constatat în cazul angiotensinei II formate local la nivelul țesutului glandular hipofizar. Atât *in vitro*, cât și *in vivo*, LHRH eliberează angiotensina II de la nivelul celulelor gonadotrope hipofizare, care la rândul ei acționează ca factor de mediere a acestuia asupra eliberării de prolactină din celulele lactotrofe hipofizare [80]. Acțiunea stimulatoare a secreției de prolactină de către angiotensina II eliberată de celulele gonadotrope ale hipofizei anterioare sub influența LHRH hipotalamic ilustrează ipoteza reglării paracrine intercelulare a secreției adenohipofizare [148].

Eliberarea prolactinei de către angiotensina II este asociată cu activarea metabolismului fosfatidilinozitolului adenohipofizar eliberator de arahidonat, sugerând participarea fosfolipazelor și Ca^{++} la acest proces [81].

Ca și în cazul prolactinei, angiotensina II influențează secreția de *hormon luteinizant* (LH) prin intermediul eliberării de LHRH. Rolul activator al angiotensinei II asupra eliberării de LHRH poate fi direct sau indirect cu participarea noradrenalinei de la nivelul ariei preoptice [148]. Efectele angiotensinei II și noradrenalinei sunt similare în mai multe circumstanțe. Când sunt administrate intraventricular, atât angiotensina II, cât și noradrenalina stimulează secreția de LH a șobolancelor normale. Efectul stimulant al angiotensinei II devine inhibitor în cazul șobolancelor ovariectomizate și reapare după administrare de estrogeni și progesteron. S-a constatat că atât depleția noradrenalinei cerebrale cu dietilditiocarbamat cât și blocarea receptorilor α_2-adrenergici cu yohimbină previne stimularea secreției de LH de către angiotensina II. Pe această bază s-a făcut presupunerea că angiotensina II acționează asupra secreției de LH, facilitând eliberarea noradrenalinei la nivelul ariei preoptice secretoare de LHRH. Astfel, s-a precizat că proprietățile activatoare ale angiotensinei II asupra secreției de LH și prolactină sunt dependente atât de prezența hormonilor circulanți gonadali cât și de conținutul în noradrenalină al căilor hipotalamo-adenohipofizare. Prezența angiotensinei II în hipofiza anterioară activatoare a secreției de LH și prolactină corelată cu influența hormonilor ovarieni asupra efectelor sale hipofizare sugerează posibilitatea participării acesteia la realizarea buclei feedback autoreglatoare a funcției de reproducere [54].

Alți hormoni adenohipofizari sunt secretați cu participarea angiotensinei II circulante sau cerebrale. Angiotensina II periferică stimulează eliberarea de hormon tireotrop, somatotrop și β-endorfină prin mecanisme neurohormonale insuficient studiate. În cazul hormonului de creștere s-a constatat că efectele angiotensinei II depind de stadiul

Scanned with OKEN Scanner

dezvoltării şi contextul hormonal. La animalele imature, angiotensina II potenţează eliberarea hormonului de creştere, iar la cele adulte o inhibă [129]. Prin acţiunea directă asupra celulelor hipotalamice secretoare de somatostatin, angiotensina II deprimă secreţia hormonului de creştere [148].

5.6.3. SRA PINEAL

Existenţa unei intense activităţi renin-like în glandele pineale ale şobolanilor normali şi binefrectomizaţi semnalată de noi în anii 1974-1975 [63,64], a fost confirmată ulterior la şoarece [22], porc [72], bovine [1] şi om [65, 97]. Din aceeaşi perioadă datează evidenţierea radioimunologică a angiotensinei I în glandele pineale recoltate de la şobolani normali şi cu diabet insipid congenital [26], precum şi experimentele pe culturi de celule pineale care au evidenţiat capacitatea acestora de a elibera izorenină în mediul de cultură [66].

La rândul său, enzima de conversie a fost detectată în ţesutul glandular pineal atât la şobolan [74], cât şi la om [7]. O cale alternantă formatoare de angiotensină II din angiotensină I reprezentată de participarea chimazei a fost identificată în pineala umană de către autorii sus-citaţi.

Referitor la activitatea renin-like a glandei pineale, părerile sunt încă împărţite. În timp ce unii autori admit că este vorba de o enzimă identică cu renina, de origine renală, sintetizată local sau preluată din circulaţie şi stocată de glandă, a cărei barieră este slab dezvoltată [20], alţi cercetători pun activitatea renin-like a pinealei pe seama unor enzime proteolitice angiotensin formatoare (tonină, catepsina D sau G).

Cercetările recente asupra ARN mesager pentru renină, angiotensinogen, enzimă de conversie şi receptori angiotensinici AT_1 au infirmat existenţa doar a reninei din ţesutul glandular pineal [6]. Deşi prezenţa reninei este încă discutabilă, descoperirea celorlalte componente ale SRA la nivelul glandei pineale a mamiferelor, alături de alte substanţe neurohormonale (melatonină, serotonină, noradrenalină, substanţa P, arginin-vasotocină, neuropeptidul Y, VIP, enkefaline) a determinat numeroase cercetări experimentale asupra implicaţiilor sale funcţionale la acest nivel. Dintre acestea fac parte cercetările referitoare la variaţiile diurne ale activităţii renin-like pineale produse de expunerea şobolanilor la întuneric şi lumină. Dozările efectuate din 6 în 6 ore au evidenţiat creşteri evidente nocturne urmate de scăderi diurne ale activităţii renin-like angiotensin formatoare pineale [67].

Variaţiile fiind în acelaşi sens cu ale melatoninei studiate de alţi autori [4,125], activitatea renin-like a glandelor pineale de şobolan a fost determinată înainte şi după secţionarea simpaticului cervical, ştiut fiind că pineala are inervaţie predominant simpatică, plecată de la nivelul

Scanned with OKEN Scanner

gangionului cervical superior. Atât simpatectomia chirurgicală, cât şi cea chimică, realizată cu ajutorul rezerpinei (1 mg/kg corp i.p.) au diminuat până la dispariţie variaţiile nictemerale ale activităţii renin-like pineale. Acestea variind în acelaşi sens cu ale melatoninei, principalul hormon indolic al glandei pineale, în continuare s-a cercetat influenţa angiotensinei asupra conţinutului în serotonină şi N-acetiltransferază, principala enzimă implicată în biosinteza hormonilor indolici pineali având ca precursor serotonina. Rezultatele obţinute raportate la lotul martor au evidenţiat creşterea semnificativă a conţinutului în serotonină determinată spectrofotometric din pinealele recoltate de la câinii anesteziaţi şi trataţi i.v. cu doze cvasifiziologice de angiotensină II (tabelul 5.5).

Tabelul 5.5. Influenţa angiotensinei asupra serotoninei din pineala de câine [68]

	Serotonina (ng/ gram ţesut umed)	
Martor (6)	1,04 ± 0,33	
Ang II – 25 ng/ml (6)	1,97 ± 0,41	P < 0,05
Ang II – 50 ng/ml (6)	3,2 ± 1,1	P < 0,02

Faptul fiind în acord cu cercetările anterioare ale lui Nahmod şi colab. [105], cercetările au fost extinse asupra activităţii N-acetiltransferazei pentru a vedea dacă efectele activatoare ale angiotensinei sunt limitate la biosinteza serotoninei sau se exercită şi asupra enzimei formatoare de melatonină. Incubarea omogenatelor glandulare pineale cu angiotensină în doze variabile nu a modificat semnificativ activitatea enzimatică a N-acetiltransferazei. Pe fondul cunoscutei activări a N-acetiltransferazei de către izoproterenol, angiotensina II a determinat o evidentă creştere a activităţii enzimatice [70] (tabelul 5.6).

Tabelul 5. 6. Influenţa angiotensinei II asupra activităţii N-acetiltransferazei pineale la şobolan

	N-acetiltransferaza (pM/mg/h)
Martor (6)	68,3 ± 24
Ang II 25 ng/ml (6)	75 ± 18
Izoproterenol 250 µg/kg (6)	125 ± 32
Izoproterenol 250 µg/kg (6) + Ang II 25 ng/ml (6)	550 ± 71

Aceste rezultate sugerează posibilitatea activării proceselor de biosinteză a serotoninei şi melatoninei de către SRA pineal prin mecanisme insuficient cunoscute. Dacă angiotensina II activează biosinteza serotoninei prin mecanismul activării triptofan-hidroxilazei sau inhibă eliberarea acesteia, ca în creier, rămâne de precizat. În cazul N-acetiltransferazei mecanismul pare a fi indirect prin intermediul activării receptorilor β-adrenergici stimulaţi de izoproterenol.

Scanned with OKEN Scanner

Ceea ce apare evident este că în afara binecunoscutelor proprietăți centrale activatoare atât a eliberării de ADH, ACTH şi catecolamine, cât şi a reacțiilor vasculare presoare şi dipsogene, angiotensina II realizează şi modularea biosintezei de serotonină şi melatonină la nivelul glandei pineale.

Prin intermediul şi cu participarea acestora, glanda pineală contribuie la sincronizarea şi modularea plurifactorială a reacțiilor neuroendocrinometabolice adaptative, comportându-se ca un veritabil „reglator al reglatorilor".

5.7. SRA CORTICOSUPRARENAL

Numeroase cercetări experimentale au demonstrat existența unui SRA intrinsec, atât în teritoriul glandular corticosuprarenalian cât şi în cel medulosuprarenal.

Cortexul suprarenalian conține toate componentele SRA, începând cu prorenina şi renina şi sfârşind cu angiotensinele I şi II [78,102]. Concentrația corticosuprarenaliană a acestora este depăşită doar de aparatul juxtaglomerular renal. Una din primele dovezi convingătoare a fost oferită de Ryan [128] cu prilejul cercetărilor asupra activității renin-like a extractelor de țesut glandular corticosuprarenal de iepure. Ulterior, Ganten şi colab. [56] au semnalat prezența reninei în suprarenalele de şobolan şi om. Concentrațiile cele mai mari ale reninei suprarenale au fost găsite în tumorile hipersecretoare de aldosteron precum şi la şobolanii cu hipertensiune arterială spontană [108]. Determinarea ARN mesager specific reninei şi angiotensinogenului a precizat predominanța acestora la nivelul zonei glomerulate secretoare de hormoni mineralocorticoizi. Peste 90% din renina extrasă şi peste 70% din angiotensinele I şi II formate local au fost găsite în celulele zonei glomerulate [73]. Inhibarea enzimei de conversie cu captopril a determinat creşterea angiotensinei I, însoțită de scăderea angiotensinei II adrenale la şobolan. Situsurile de legare ale angiotensinei II au fost, de asemenea, identificate în zona externă glomerulară a corticosuprarenalelor. Întrucât nefrectomia nu a influențat semnificativ conținutul în enzime angiotensin-formatoare, s-a admis rolul paracrin al SRA corticosuprarenalian cu localizare predominant zonală glomerulară. Prin centrifugare diferențiată s-a precizat că renina se găseşte în granulele dense separate din mitocondriile şi microsomii celulelor glomerulare şi că densitatea lor creşte la şobolanii nefrectomizați sau supuşi depleției sodate [98]. În timp ce alimentația săracă în Na^+ creşte conținutul în renină adrenală, regimul hipersodat o scade. ACTH-ul şi dieta bogată în potasiu de asemeni stimulează secreția de renină adrenală. Cel mai puternic stimul al reninei corticosuprarenaliene este însă binefrectomia [102]. Aceasta reduce renina plasmatică până la nivele nedetectabile în următoarele 4-6 ore, timp în care concentrația reninei adrenale atinge valori maxime. Animalele

Scanned with OKEN Scanner

transgenice prezintă, ca şi şobolanii cu hipertensiune arterială spontană o activitate secretorie de renină superioară loturilor martor [157].

Referitor la funcţiile biologice ale SRA adrenal, s-au acumulat suficiente dovezi experimentale în favoarea participării sale, împreună cu SRA renal, la reglarea fiziologică a reproducerii şi secreţiei de aldosteron. Una din cele mai convingătoare dovezi experimentale este reprezentată de relaţiile existente între steroidogeneză şi efectul inhibitor al SRA adrenal asupra producerii de aldosteron. Capsulele suprarenale perfuzate cu Ang. I reacţionează prin activarea steroidogenezei şi creşterea secreţiei de aldosteron, în timp ce blocarea locală a conversiei acesteia în angiotensină II de către lisinopril, determină inhibarea biosintezei şi eliberării aldosteronului [114]. Antagoniştii receptorilor angiotensinici de tip AT_1, de asemenea inhibă secreţia de aldosteron produsă de potasiu şi ACTH [61]. Efectul inhibitor al saralazinei şi losartanului este mai puternic în condiţiile perfuziei glandulare cu ser hiposodat. Mecanismul de producere a acţiunii aldosterono-eliberatoare a SRA adrenal şi extraadrenal ar fi, după Mulrow şi Franco-Saenz [101], este prezentat în figura 5.18.

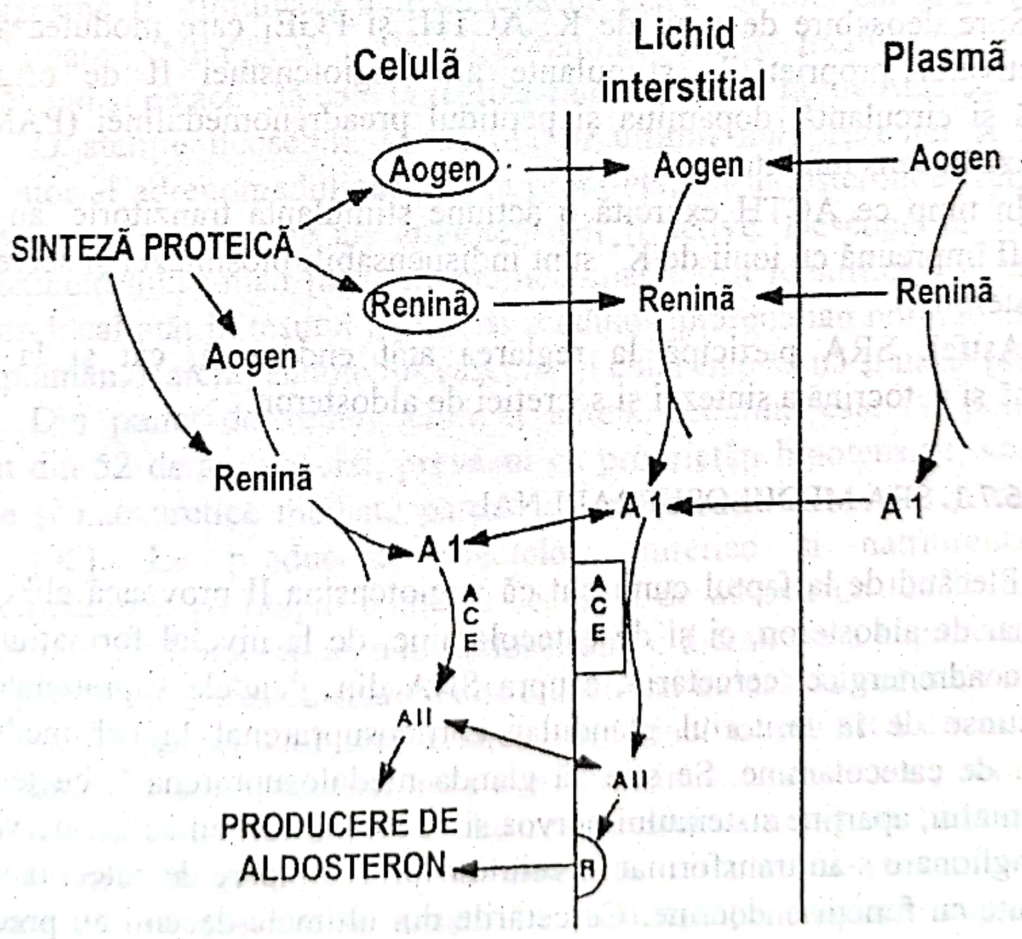


Figura 5.18. Mecanismul de producere a acţiunii aldosterono-eliberatoare a SRA adrenal şi extraadrenal [101].

Scanned with OKEN Scanner

Ambele componente reglatoare acționează la nivelul celulelor secretoare glomerulare prin intermediul mesagerilor secunzi de tipul 1,4,5-inozitol-trifosfatului, DAG și ionilor de calciu, ca activatori ai protein-kinazei C necesară fosforilării protein-enzimelor formatoare de aldosteron.

După Lumbers [92], ang II acționează prin intermediul receptorilor AT_1 și proteinei G membranare la diferite nivele ale sintezei de aldosteron. O primă acțiune stimulatoare are loc la nivelul treptei inițiale a stero-idogenezei și constă în activarea conversiei colesterolului și pregneno-lonului cu participarea citocromului P_{450} mitocondrial.

La rândul său, pregnenolonul este transformat mai întâi în progesteron și în 18-OH deoxicorticosteron pentru a fi utilizat apoi la biosinteza aldosteronului sub influența aldosteronsintetazei activate de ang. II și ionii de potasiu.

La procesul complex al biosintezei și eliberării de aldosteron participă atât ang. II adrenală și circulantă, cât și o gamă variată de factori activatori și inhibitori ai secreției de aldosteron. Dintre aceștia fac parte ionii de potasiu, ACTH, ANF, PGE_1, dopamina și adrenomedulina.

Spre deosebire de ionii de K, ACTH, și PGE_1 care modulează în sens activator proprietățile stimulante ale angiotensinei II de origine adrenală și circulantă, dopamina și peptidul preadrenomedulinei (PAMP) acționează în sens inhibitor.

În timp ce ACTH exercită o acțiune stimulantă tranzitorie, angio-tensina II împreună cu ionii de K^+ sunt indispensabili biosintezei și secreției de aldosteron.

Astfel, SRA participă la reglarea atât endocrină, cât și la cea paracrină și autocrină a sintezei și secreției de aldosteron.

5.7.1. SRA MEDULOSUPRARENAL

Plecând de la faptul cunoscut că angiotensina II provoacă eliberare nu numai de aldosteron, ci și de catecolamine, de la nivelul formațiunilor simpaticoadrenergice, cercetările asupra SRA din glandele suprarenale au fost extinse de la teritoriul glandular corticosuprarenal la cel medular, secretor de catecolamine. Se știe că glanda medulosuprarenală, cu țesutul său cromafin, aparține sistemului nervos simpatic, ale cărui celule nervoase postganglionare s-au transformat în celule neurosecretoare de catecolamine, prevăzute cu funcții endocrine. Cercetările din ultimele decenii au precizat că țesutul glandular medulosuprarenal îndeplinește și funcții paracrine eliberatoare de hormoni locali de tipul SRA, adrenomedulinei, NPY și peptidelor opioide (metil și leucilenkefalina).

Scanned with OKEN Scanner

Datele referitoare la SRA medulosuprarenal au la bază constatarea că angiotensina II stimulează secreţia de catecolamine medulosuprarenale la pisică şi câine, efect neinfluenţat de denervarea cronică a glandei sau de blocajul ganglionar cu hexametoniu [44]. Acţiunea stimulantă locală fiind reprodusă ulterior pe glande izolate şi perfuzate, a stat la baza cercetărilor referitoare la SRA intrinsec medulosuprarenalian. Prezenţa unei substanţe prevăzute cu proprietăţi renin-like în medulo-suprarenala umană [108] a fost întregită de identificarea enzimei de conversie în glandele medulosuprarenale ale şobolanilor [124]. Posibilitatea ca ţesutul cromafin medulosuprarenal să facă oficiul atât de ţintă a angiotensinei II circulante, cât şi pentru angiotensina generată local a fost confirmată de prezenţa angiotensinei II şi a situsurilor de legare a acesteia în zona medulară a glandei suprarenale [79]. Localizarea autoradiografică a receptorilor angiotensinici de tip AT_2 la nivelul ţesutului glandular medulosuprarenalian este predominantă (în proporţie de peste 70%) pe celulele cromafine secretoare de catecolamine [94]. De menţionat că şi celulele necromafine medulosuprarenale conţin receptori angiotensinici. Pe ambele căi celulare, angiotensina II stimulează atât secreţia de catecolamine, cât şi de peptide modulatoare (NPY, enkefaline, adrenomedulină) medulosuprarenalele contribuind şi pe această cale la realizarea echilibrelor homeostazice.

O atenţie deosebită se acordă în ultimii ani prezenţei şi rolului modulator al adrenomedulinei asupra proprietăţilor aldosteronoeliberatoare, renale şi cardiovasculare ale angiotensinei II active. Descoperită iniţial în feocromocitomul uman [84], adrenomedulina a fost identificată ulterior ca hormon local atât în ţesutul glandular medulosuprarenalian normal, cât şi în cord, plămân, rinichi, endoteliul vascular şi chiar în plasmă şi urină [43].

Din punct de vedere chimic, adrenomedulina este un polipeptid format din 52 de aminoacizi, prevăzut cu proprietăţi hipotensive, vasodilatatoare şi natriuretice mediate parţial de creşterea AMP ciclic şi oxidului nitric [95]. La producerea efectelor diuretice şi natriuretice ale adrenomedulinei participă inhibarea secreţiei de aldosteron [172] realizată prin mecanismul blocării acţiunii aldosterono-eliberatoare a angiotensinei II active [3]. Dacă inhibarea secreţiei de aldosteron indusă de angiotensină este consecinţa influenţei inhibitorii a adrenomedulinei asupra SRA circulant sau a celui autocrin (suprarenalian) nu s-a precizat încă. Ceea ce s-a stabilit până în prezent este distribuţia şi implicarea acestui nou peptid hormonal în reglarea normală şi patologică a funcţiilor circulatorii şi cardiorenale. Concentraţia sa plasmatică creşte în insuficienţa cardiacă congestivă, infarctul miocardic, hipertensiunea arterială şi bolile renale, ca răspuns compensator la dezechilibrele cardiovasculare, volemice şi hidroelectrolitice produse de aceste stări patologice. Atât adrenomedulina, cât şi peptidul

Scanned with OKEN Scanner

proadrenomedulin (PAMP) inhibă nu numai secreţia de aldosteron produsă de ang. II şi ionii de potasiu, ci şi ingestia de apă şi sare prin mecanisme neurohormonale centrale insuficient cunoscute [130]. Ca hormoni locali şi circulanţi, ambele peptide acţionează şi asupra complexului hipotalamo-hipofizar, antagonizând eliberarea ACTH-ului de către CRF hipotalamic şi activând secreţia de ocitocină [160].

Atât proprietăţile paracrine sau autocrine locale, cât şi acţiunile fiziofarmacologice generale ale adrenomedulinei şi PAMP se produc prin intermediul unor receptori care aparţin subtipului I al receptorului specific peptidului genei calcitoninei (CGRP). Aceştia prezintă reactivitate încrucişată datorită analogiei structurale dintre adrenomedulină, calcitonină şi amilin, peptide derivate din gena comună codată pe cromosomul 11 [167]. Numeroase ţesuturi şi organe, inclusiv zona glomerulată a glandei corticosuprarenale, conţin receptori specifici acestei superfamilii de peptide cu structură homologă, alături de receptorii angiotensinici. La inhibarea efectelor stimulante ale angiotensinei II asupra secreţiei de aldosteron de către adrenomedulină, un rol important revine calciului ionic intracelular şi acumulării de AMPc [43].

5.8. SRA SALIVAR

Una din primele dovezi experimentale privind existenţa reninei de origine extrarenală a fost reprezentată de răspunsul presor determinat de extractul glandular submandibular de şoarece [164]. Spre deosebire de şoarece, şobolanul nu prezintă renină în glandele salivare, locul acesteia fiind luat de tonină, o serin-protează formatoare directă de angiotensină II din angiotensinogen, fără etapa intermediară de angiotensină I. Iepurele şi alte rozătoare prezintă însă o activitate renin-like dozabilă a glandelor salivare. La om, renina de origine salivară predomină mai ales la pacienţii anefrici [163].

Datorită conţinutului bogat în renină a glandelor salivare de şoarece, aceasta a fost utilizată iniţial ca principală sursă de enzimă angiotensin-formatoare în cercetările asupra biochimiei şi efectelor sale fizio-farmacologice la mamifere şi om. Prepararea reninei pure extrase din glandele salivare ale şoarecilor a contribuit substanţial la caracterizarea fizico-chimică şi introducerea tehnicilor de dozare radioimunologică a activităţii sale cu ajutorul anticorpilor specifici. Referitor la structura chimică s-a precizat că renina submandibulară a şoarecelui este formată din 2 lanţuri de aminoacizi legate printr-o punte disulfidică, a căror greutate moleculară însumează 36 000 de daltoni, prezentând o omologie 70% cu a

Scanned with OKEN Scanner

reninei renale umane [99]. Biosinteza reninei submandibulare are loc la nivelul aparatului Golgi al celulelor ductului salivar, dintr-un precursor (preprorenină) transformat enzimatic mai întâi în prorenină şi apoi în renină propriu-zisă. Expresia genică este asigurată de participarea a 2 gene *(ren-1 şi ren-2)*, dominantă fiind gena *ren-2*. Animalele transgenice purtătoare de genă *ren-2* de şoarece dezvoltă o hipertensiune arterială fulminantă [100]. Conţinutul în renină al glandelor salivare este mai mare la şoarecii masculi decât la femele. Testosteronul creşte nivelul scăzut al reninei glandulare a femelelor. Astfel, s-a precizat că sinteza şi conţinutul în renină al glandelor salivare la şoareci sunt sub control genetic şi endocrin [166].

Secreţia reninei se produce în cea mai mare parte în salivă, fiind stimulată de agoniştii α-adrenergici. Mici cantităţi sunt eliberate în sânge. Comportamentul agresiv al şoarecilor determină creşterea concentraţiei plasmatice a reninei, de 100 până la 600 de ori [10]. Semnificaţia fiziologică a reninei salivare constituie încă subiectul unor opinii diferite, începând cu participarea acesteia la autoreglarea locală a funcţiei glandulare şi sfârşind cu rolul posibil de factor umoral de reglare generală homeostatică. Prezenţa ARN mesager specific angiotensinogenului, împreună cu renina în ţesutul glandular salivar sugerează capacitatea de sinteză a angiotensinei cu rol în reglarea fluxului sanguin local. Secreţia în salivă a reninei pare a fi cuplată cu a factorilor salivari de creştere nervoasă şi epidermică pentru a contribui la vindecarea prin lingerea rănilor produse în timpul luptei cu diverşi agresori.

Alte implicaţii fiziologice şi patologice ale SRA salivar nu sunt cunoscute deocamdată.

5.9. SISTEMUL RENINĂ-ANGIOTENSINĂ CIRCULANT ŞI TISULAR CA SISTEM HORMONAL UNITAR

Numeroase dovezi biochimice şi funcţionale s-au acumulat în ultimele decenii în favoarea conceptului integrat de SRA unitar, conform căruia proprietăţile angiotensin-formatoare ale reninei şi enzimelor renin-like tisulare, în vederea realizării multiplelor sale acţiuni periferice şi centrale. Una din principalele dovezi experimentale convingătoare a fost detectarea ARN mesager specific atât reninei cât şi angiotensinogenului în cel puţin 12 ţesuturi şi organe.

La rândul lor, cercetările imunohistochimice au identificat celelalte componente ale SRA tisular, începând cu enzima de conversie şi sfârşind cu receptorii specifici angiotensinei II active. Astfel, s-au pus bazele cercetărilor referitoare la SRA de origine tisulară, extrarenală.

Scanned with OKEN Scanner

În comparație cu datele analitice și implicațiile funcționale ale SRA tisular, relațiile acestuia cu SRA circulant, de origine renală, sunt insuficient precizate. S-a făcut presupunerea că generarea angiotensinei la nivel celular se realizează fie intracelular, fie extracelular din angiotensinogenul sintetizat local sau preluat din plasmă de către țesuturile angiotensin-formatoare. Cât privește enzima tisulară responsabilă de clivajul angiotensinogenului, aceasta ar fi, de asemenea, de origine celulară locală sau de simplu stocaj intracelular. O mare parte din renina circulantă găsindu-se la om sub formă inactivă de prorenină, activarea acesteia s-ar realiza la nivel celular. Între timp s-a demonstrat însă existența tuturor factorilor necesari sintezei locale de angiotensină în cord, musculatura netedă vasculară, sistemul nervos central și unele teritorii glandulare.

Deși implicațiile funcționale normale și patologice ale SRA tisular sunt în linii mari cunoscute, relațiile de interdependență ale acestuia cu SRA circulant de origine renală sunt parțial demonstrate. Corelând datele din literatură cu rezultatele colectivului nostru, s-a tentat următoarea prezentare a interrelațiilor existente între SRA circulant și cel tisular (figura 5.19.).

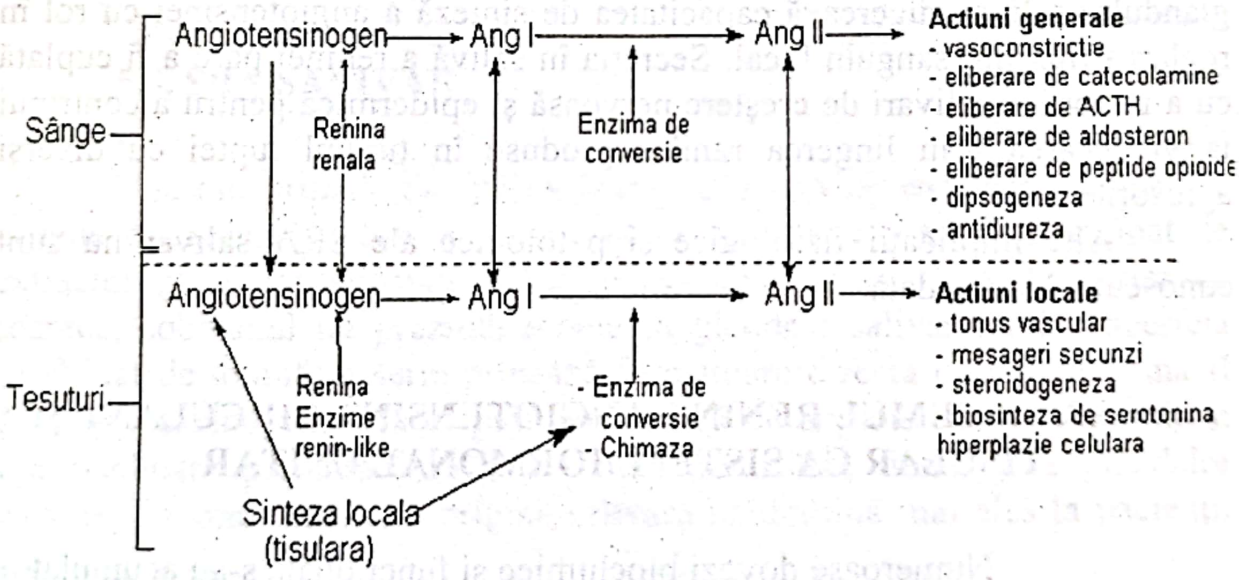


Figura 5.19. Relații între sistemul renină angiotensină circulant și tisular.

La formarea angiotensinei II circulante sau locale din angiotensinogenul plasmatic participă atât renina de origine renală, cât și izoenzima sau enzimele renin-like tisulare cu consecințe funcționale generale sau locale de diferite tipuri, durate și grade.

Se pare că între cele două componente ale SRA ca sistem hormonal unitar, există relații de autoreglare prin feedback care asigură echilibrul biosintezei și proprietăților generale și locale ale angiotensinelor biologic active. Prin acțiunile centrale și periferice ale acestora, SRA participă atât la

Scanned with OKEN Scanner

reglarea cardiovasculară, hidroelectrolitică şi volemică indispensabilă homeostaziei circulatorii, cât şi la modularea unor funcţii senzitivo-senzoriale endocrine şi comportamentale complexe (senzaţie de sete, ingestie de apă etc.).

În timp ce SRA renal contribuie la realizarea reacţiilor adaptative rapide, dar de scurtă durată, cel tisular prelungeşte în timp efectele locale ale acestora, determinând importante modificări structurale şi funcţionale ca urmare a intensificării expresiei prooncogene şi activităţii factorilor de creştere celulari [40].

Pe această dublă cale, SRA realizează reacţii multiple locale şi generale care contribuie fie la modelarea şi menţinerea echilibrelor homeostatice normale, fie la dereglarea lor în condiţii patologice.

Astfel, interdependenţa existentă între SRA circulant şi tisular asigură atât caracterul unitar al sistemului, cât şi sensul şi durata reacţiilor adaptative la care participă.

Ca exemplu pot fi date interrelaţiile dintre cele 2 componente ale SRA de la nivelul cordului, vaselor şi rinichilor, a căror participare endocrină şi paracrină contribuie atât la producerea reacţiilor neurohormonale generale, cât şi la realizarea hipertrofiei miocardice şi vasculare locale generatoare de boli cardiovasculare (insuficienţă cardiacă congestivă, hipertrofie ventriculară stângă, hipertensiune arterială). Implicarea SRA circulant şi tisular în reacţiile cardiace, vasculare şi volemice normale şi patologice este văzută de Dzau [40] astfel (figura 5.20.).

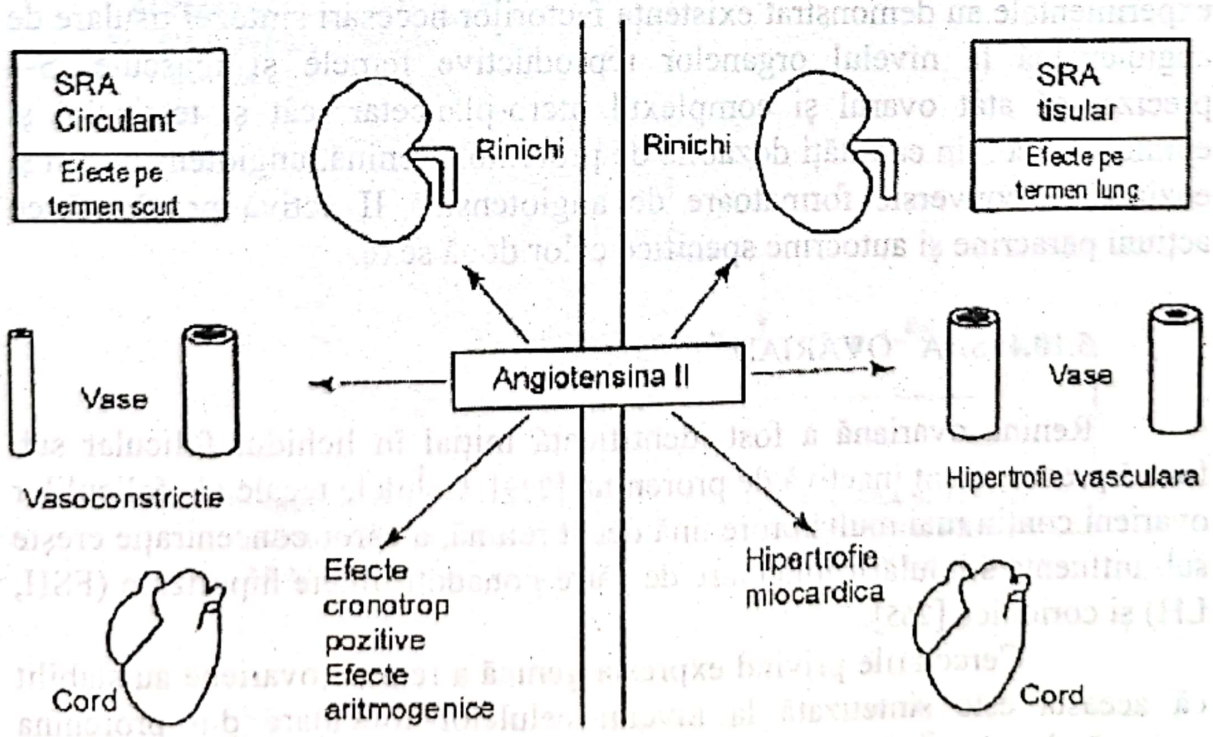


Figura 5.20. Rolurile SRA circulant şi tisular la nivel cardiovascular şi renal [40].

Scanned with OKEN Scanner

Întregind proprietăţile cardiostimulatoare şi vasoconstrictoare ale ang. II circulante, SRA tisular contribuie prin efectele sale hipertrofice la realizarea alterărilor cardiovasculare adaptative sau maladaptative de lungă durată. De aici utilitatea atât a inhibitorilor enzimei de conversie, cât şi a blocanţilor de receptori angiotensinici în tratamentul HTA şi dezechilibrelor maladaptative cardiace. În cazul reacţiilor adaptative normale proprietăţile periferice multiple ale angiotensinei II circulante şi tisulare sunt modulate de ale celorlalte fragmente angiotensinice active şi întregite de acţiunile centrale ale SRA cerebral pentru a contribui unitar la realizarea şi menţinerea echilibrelor homeostazice cardio-vasculare şi hidro-electrolitice. Noi perspective cognitive şi aplicative deschid cercetările în curs de biologie moleculară a SRA tisular ca ţintă pentru terapia genică cu oligonucleotide antisens.

Inhibând SRA tisular la nivel genetic molecular, terapia antisens blochează specific sinteza proteinenzimei anormale indusă de translaţia ARN mesager de la nivelul nucleului la nivel citoplasmatic ribozomal.

5.10. SRA AL TRACTULUI REPRODUCTIV

Din 1964, când Brown şi colaboratorii [196] au semnalat prezenţa reninei în lichidul amniotic, un mare număr de cercetări clinice şi experimentale au demonstrat existenţa factorilor necesari sintezei tisulare de angiotensină la nivelul organelor reproductive femele şi mascule. S-a precizat că atât ovarul şi complexul utero-plancetar, cât şi testiculul şi epididimul conţin cantităţi dozabile de prorenină, renină, angiotensinogen şi enzimă de conversie formatoare de angiotensină II activă prevăzută cu acţiuni paracrine şi autocrine specifice celor două sexe.

5.10.1. SRA OVARIAN

Renina ovariană a fost identificată iniţial în lichidul folicular sub formă predominant inactivă de prorenină [239]. Celulele tecale ale foliculilor ovarieni conţin mai multă prorenină decât renină, a căror concentraţie creşte sub influenţa stimulării foliculare de către gonadotrofinele hipofizare (FSH, LH) şi corionică [265].

Cercetările privind expresia genică a reninei ovariene au stabilit că aceasta este sintetizată la nivelul celulelor foliculare din prorenina activată de către pH-ul acid şi enzimele proteolitice (pepsină, tripsină, catepsină, plasmină etc.). Deşi o mare parte din prorenina inactivă este

Scanned with OKEN Scanner

convertită în renină activă, ambele fracţii enzimatice sunt eliberate pentru a acţiona asupra angiotensinogenului şi iniţia declanşarea cascadei angiotensin-formatoare.

În general, lichidul folicular conţine atât prorenină, cât şi renină în concentraţii mult mai mari decât cele plasmatice. Activitatea renin-like a lichidului folicular uman este de 14 ori mai mare decât a plasmei [214]. Sângele venos ovarian prezintă de asemenea valori mai mari decât sângele periferic nu numai în cazul proreninei şi reninei, ci şi în cel al angiotensinelor I şi II, mai ales în cursul fazei luteale a ciclului menstrual. În primul trimestru de sarcină s-a constatat o creştere de peste 10 ori a proreninei plasmatice coincizând cu valorile crescute ale gonadotrofinei corionice. De precizat că o parte din prorenina ovariană umană trece în plasma circulantă contribuind la realizarea şi menţinerea valorilor normale ale reninei plasmatice [238]. Datorită acestui fapt, prorenina nu dispare din sângele circulant după nefrectomie bilaterală.

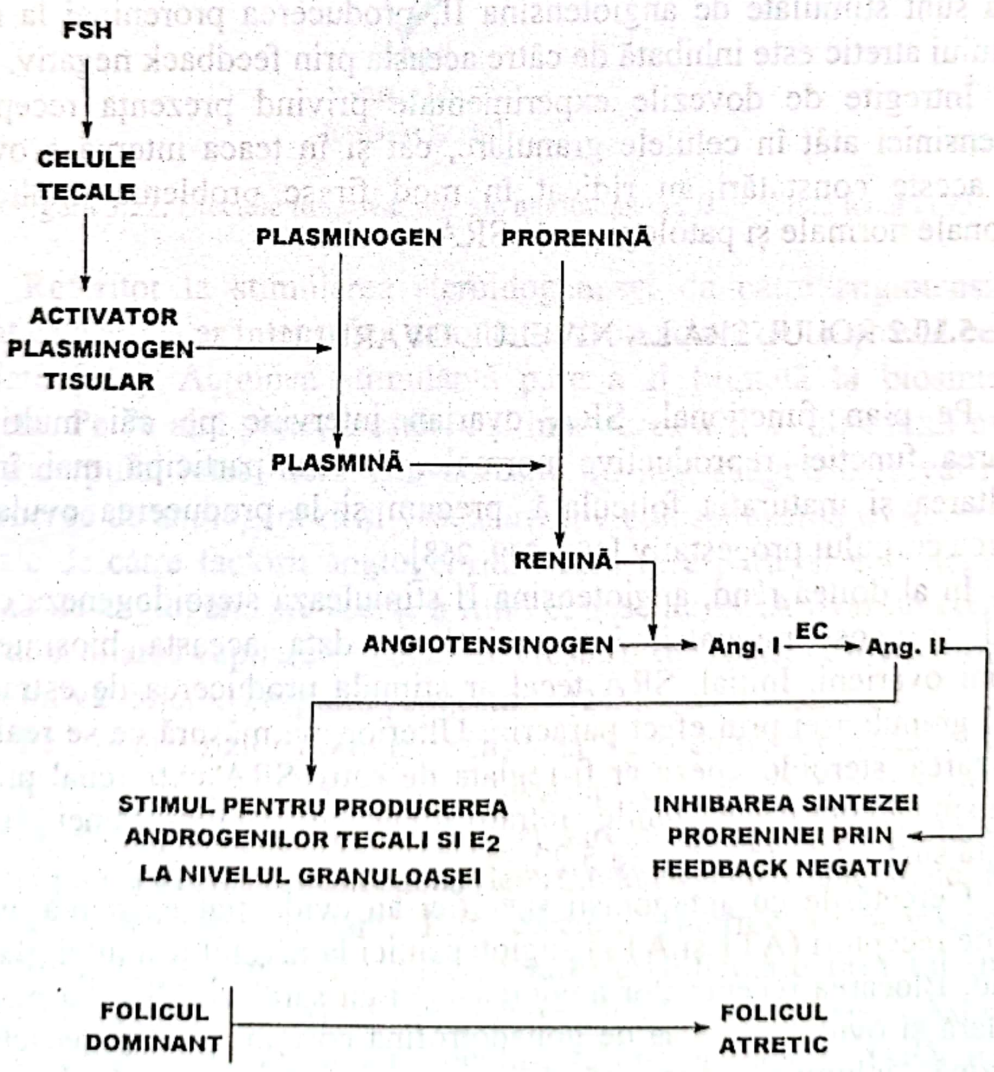


Figura 5.21. Biochimia şi acţiunile sistemului renină-angiotensină ovarian [239].

Scanned with OKEN Scanner

La rândul său, imunoreactivitatea angiotensinei I din lichidul folicular ovarian este de peste 10 ori mai mare decât a celei din plasmă [204]. Cantități mari de angiotensină II se găsesc în lichidul folicular uman formată sub influența enzimei de conversie a angiotensinei I ovariene [239]. Astfel s-a ajuns la conceptul actual al existenței tuturor factorilor necesari sintezei locale de angiotensină II activă la nivelul teritoriului glandular ovarian. Biochimia și acțiunile sistemului renină angiotensină ovarian sunt prezentate în figura 5.21.

În timp ce creşterea foliculului dominant, angiogeneza şi steroidogeneza sunt stimulate de angiotensina II, producerea proreninei la nivelul foliculului atretic este inhibată de către aceasta prin feedback negativ.

Întregite de dovezile experimentale privind prezența receptorilor angiotensinici atât în celulele granulare, cât și în teaca internă a ovarului [206], aceste constatări au ridicat în mod firesc problema implicațiilor funcționale normale și patologice ale SRA ovarian.

În timp ce creşterea foliculului dominant, angiogeneza şi steroidogeneza sunt stimulate de angiotensina II, producerea proreninei la nivelul foliculului atretic este inhibată de către aceasta prin feedback negativ.

Întregite de dovezile experimentale privind prezența receptorilor angiotensinici atât în celulele granulare, cât și în teaca internă a ovarului [206], aceste constatări au ridicat în mod firesc problema implicațiilor funcționale normale și patologice ale SRA ovarian.

5.10.2 ROLUL SRA LA NIVELUL OVARULUI

Pe plan funcțional, SRA ovarian intervine pe căi multiple la realizarea funcției reproductive normale. Acesta participă mai întâi la dezvoltarea și maturația foliculară, precum și la producerea ovulației și formarea corpului progestativ [193, 239, 268].

În al doilea rând, angiotensina II stimulează steroidogeneza ca și la nivelul corticosuprarenalei, influențând de data aceasta biosinteza de hormoni ovarieni. Inițial, SRA tecal ar stimula producerea de estradiol la nivelul granuloasei prin efect paracrin. Ulterior, pe măsură ce se realizează luteinizarea, steroidogeneza ar fi reglată de către SRA extrarenal printr-un mecanism autocrin. Acțiunile intraovariene ale angiotensinei II local generată sunt ilustrate în figura 5.22.

Cercetările cu antagoniști specifici au evidențiat existența ambelor tipuri de receptori (AT1 și AT2) angiotensinici la nivelul țesutului glandular ovarian. Blocarea receptorilor angiotensinici cu saralazină inhibă maturația foliculară și ovulația indusă de gonadotrofina corionică. Spre deosebire de saralazină, inhibitorii enzimei de conversie nu afectează dezvoltarea foliculară.

Scanned with OKEN Scanner

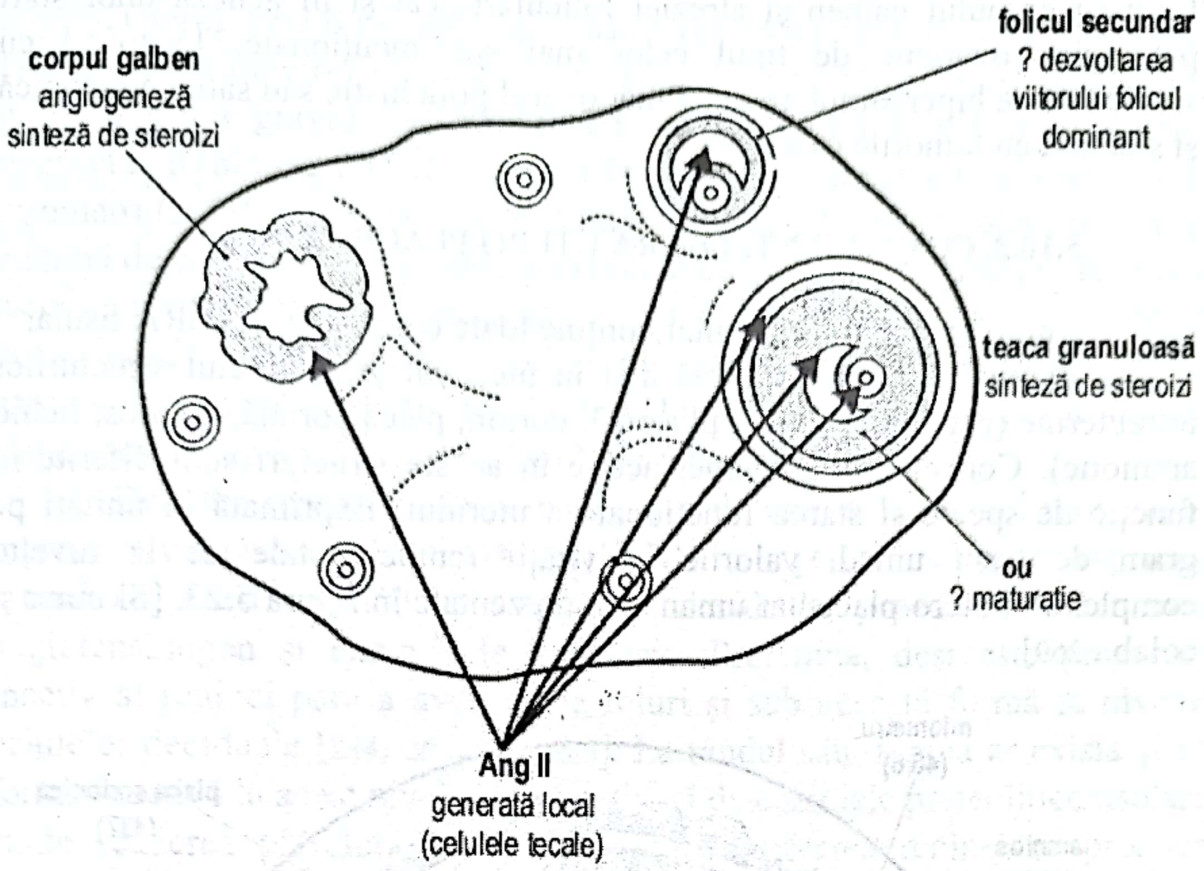


Figura 5.22. Efectele intraovariene ale angiotensinei II generate local [193].

Referitor la stimularea steroidogenezei de către angiotensină s-a sugerat că aceasta ar intensifica activitatea aromatazei de la nivelul celulelor granulare [254]. Acţiunea stimulantă pare a fi limitată la biosinteza de estrogeni. Pe de altă parte, creşterea şi maturarea atât a foliculului ovarian, cât şi a corpului luteal dominant necesită un flux sanguin adecvat realizat prin procese de angiogeneză şi vascularizaţie corespunzătoare. Acestea sunt asigurate de către factorii angiogeni din care face parte şi angiotensina II. Capacităţile angiogene ale acesteia fiind cunoscute, SRA ovarian contribuie atât la dezvoltarea capilarelor necesare creşterii foliculare, cât şi la formarea sistemului vascular al corpului progestativ [235].

Pe plan fiziopatologic, cascada prorenină-renină-angiotensină ovariană ar deţine un rol important în etiopatogeneza tumorilor ovariene, sindromul de hiperstimulare ovariană şi sarcina ectopică. Angiotensina II induce expresia genică prooncogenă determinând codarea oncogenei Mas şi creşterea explozivă foliculară. Prin efectele puternic vasoconstrictoare, angiotensina II participă la realizarea atreziei foliculare prin intermediul receptorilor AT_2 activatori ai apoptozei celulelor granuloase. Astfel, s-a precizat că SRA ovarian uman îndeplineşte un rol important atât pe plan fiziologic ca stimulant al steroidogenezei, maturaţiei foliculare, ovulaţiei,

Scanned with OKEN Scanner

formării corpului galben şi atreziei foliculare, cât şi în geneza unor stări patologice ovariene de tipul celor mai sus menţionate. Începând cu sindromul de hiperstimulare ovariană, ovarul polichistic sau sarcina ectopică şi sfârşind cu tumorile ovariene.

5.10.3. COMPONENTELE SRA UTERO-PLACENTAR

Complexul utero-placentar conţine toate componentele SRA tisular.

Renina a fost evidenţiată atât în uter, cât şi la nivelul structurilor intrauterine (celule deciduale, placentă, corion, placă corială, amnios, lichid amniotic). Concentraţiile reninei active în aceste structuri sunt diferite în funcţie de specie şi starea funcţională a uterului. Exprimată în unităţi pe gram de ţesut umed, valorile activităţii reninei totale de la nivelul complexului utero-placentar uman sunt prezentate în figura 5.23. [Skinner şi colab., 269].

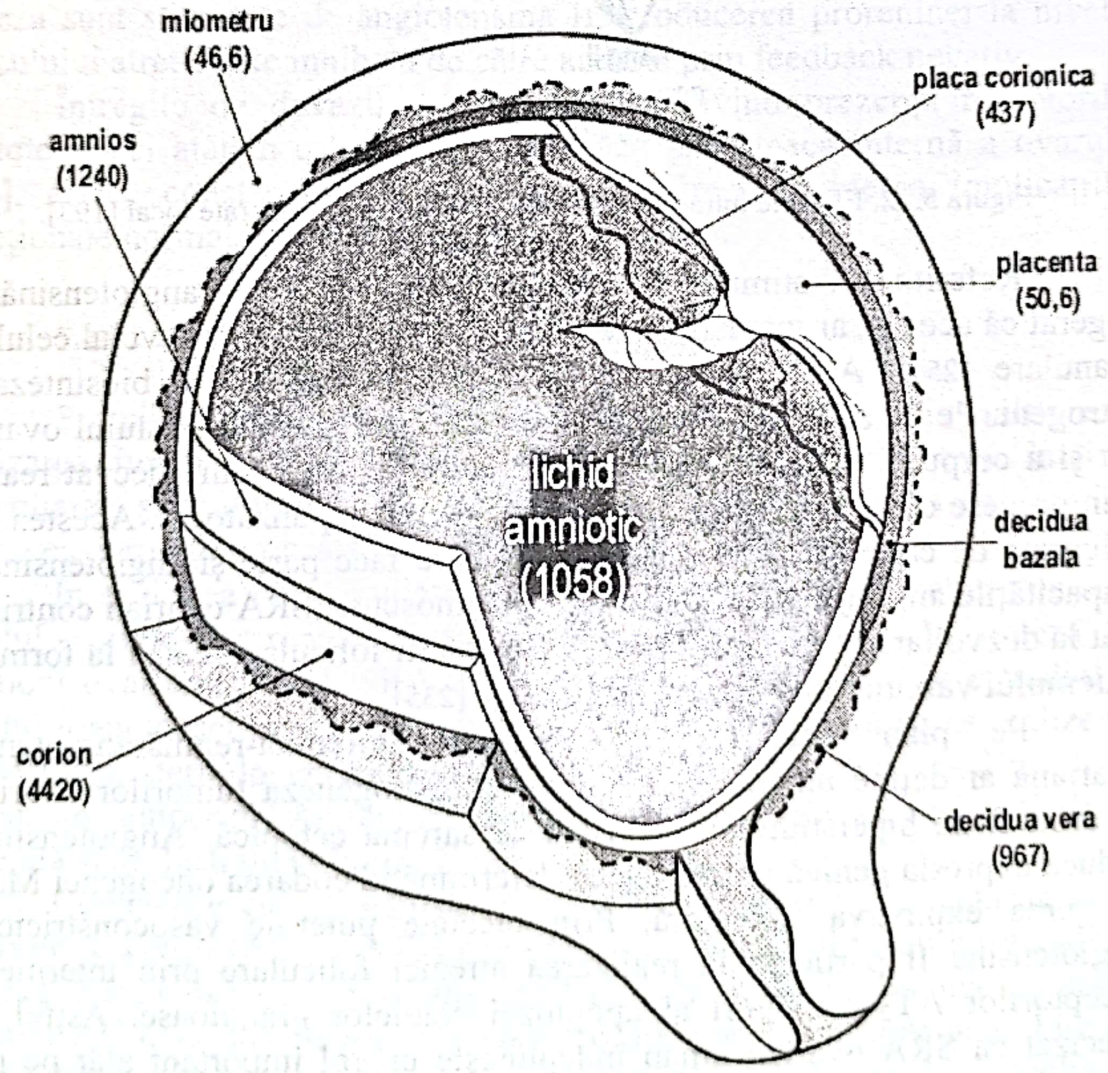


Figura 5.23. Concentraţiile reninei în structurile utero-placentare [268].

Scanned with OKEN Scanner

Uterul este o importantă sursă de renină neinfluențată de SRA renal [193, 237]. Miometrul conține cantități mari de prorenină și renină atât în cazul uterului gravid (cu cele mai mari concentrații), cât și în a celui negravid. Renina a fost identificată în țesutul conjunctiv interarteriolar al miometrului, din vecinătatea endometrului bogat în angiotensinogen și enzimă de conversie. Angiotensina rezultată acționează în mod predominant asupra receptorilor membranari angiotensinici determinând efecte atât de tip autocrin, cât și paracrin. Numărul și afinitatea receptorilor scade în timpul sarcinii și crește semnificativ în travaliu. Ionii de calciu dețin un rol important în cuplarea angiotensinei II cu receptorii specifici.

Decidua reprezintă principala sursă de renină la nivelul teritoriului reproductiv uterin [238, 252, 253, 268]. ARN mesager reninic apare exprimat numai la acest nivel [193]. Celulele deciduale posedă de asemenea angiotensinogen și enzimă de conversie. Prorenina, deși este precursor inactiv al reninei pare a avea unele roluri și sub această formă la nivelul celulelor deciduale [234, 262, 263, 265]. La rândul său, renina ar exista și ca formă inactivă la acest nivel ce ar fi activată de enzimele proteolitice tisulare și de scăderea pH-ului. Nu este clar dacă activarea reninei se produce intracelular, în circulație sau în ambele sectoare [244].

Placenta umană conține în tot timpul gestației prorenină, renină, angiotensinogen, enzimă de conversie și angiotensină. Existența acestora este dublată de expresia genică a receptorilor angiotensinici. Angiotensinogenul placentar deși se găsește sub o formă particulară cu greutate moleculară mare generează angiotensină I sub influența protează a reninei. În vasele vilozitare se realizează conversia rapidă a angiotensinei I în angiotensină II datorită prezenței enzimei de conversie la acest nivel [250, 265]. Deși conține angiotensinaze, angiotensina II nu este distrusă în circulația fetală [243]. Prin intermediul receptorilor angiotensinici, angiotensina II participă la reglarea circulației placentare și stimulează secreția de estrogeni și hormon lactogen placentar.

Corionul. Datorită relațiilor anatomice intime dintre corion și deciduă există dificultăți în obținerea preparatelor pure de corion. Prorenina și renina sunt prezente mai ales în *corion laeva*, care conține cele mai mari concentrații de prorenină (186,224,271]. Peste 98% din renina corionică este prorenină.

Amniosul. Deși unii autori consideră că renina și substratul său coexistă la acest nivel, majoritatea cercetătorilor au constatat că amniosul nu sintetizează prorenină și renină [193, 233, 238, 253]. Renina ar fi de origine corionică și doar captată de amnios.

Scanned with OKEN Scanner

Lichidul amniotic posedă însă mari concentrații de renină. Aceasta este produsă de trofoblastele corionice de unde difuzează prin amnios în lichidul amniotic. Spre deosebire de renină, lichidul amniotic conține cantități mici de angiotensinogen [193]. S-a remarcat, de asemenea, existența unor cantități mai mari de prorenină decât de renină în lichidul amniotic. La termen concentrațiile proreninei din lichidul amniotic sunt de aproximativ 10 ori mai mari decât cele plasmatice.

Creşterea vârstei sarcinii se asociază cu o scădere constantă a concentrațiilor amniotice ale componentelor SRA. Una din explicații este creşterea volumului lichidului amniotic odată cu dezvoltarea sarcinii [193, 252]. Acesta poate fi influențat însă şi de SRA corio-amniotic [268]. În timpul sarcinii normale concentrațiile angiotensinogenului cresc de 4–6 ori însoțite de creşterea progresivă a SRA plasmatic. Această creştere se manifestă precoce şi este în relație de directă proporționalitate cu nivelul estrogenilor [181, 193, 203, 224, 268, 278].

Concentrațiile scăzute ale angiotensinogenului plasmatic au fost asociate evoluției anormale a sarcinii, atrăgând atenția asupra unei posibile iminențe de avort. Explicația a fost pusă pe seama scăderii secreției de hormoni estrogeni prin afectarea funcției trofoblastice, angiotensinogenul fiind un predictor al hipoestrogeniei.

Pe de altă parte, concomitent cu creşterea angiotensinogenului şi intensificarea activității SRA plasmatice în timpul sarcinii normale, aldosteronul creşte începând din săptămâna a opta, pentru a atinge un platou în trimestrul II cu valori maxime în trimestrul III de aproximativ 10 ori mai mari decât în afara sarcinii [203, 268, 278]. Creşterile aldosteronului plasmatic sunt determinate de creşterea activității SRA prin contraacțiune față de progesteron [224]. Secreția de aldosteron este dependentă de SRA mai ales în cadrul reglărilor pe termen lung [265].

Hiperkalemia, ACTH şi hormonul placentar lactogen pot de asemenea stimula secreția de aldosteron. În timpul sarcinii, aldosteronul este stimulat şi de administrarea diureticelor, depleția sodată şi ortostatism. Administrarea soluțiilor saline determină scăderea sintezei şi eliberării de aldosteron ca urmare a alterării cascadei enzimatice renină-angiotensină aldosteroneliberatoare.

5.10.4. SRA FETAL

Renina fetală este sintetizată atât în rinichi, cât şi extrarenal în glandele suprarenale, miometru, ovar, ficat, splină, cord, complexul hipotalamo-hipofizar etc. Renina este decelabilă în metanefrosul uman din săptămâna a cincea de sarcină şi creşte semnificativ în cursul gestației.

Scanned with OKEN Scanner

Distribuția reninei în rinichiul fetal este variabilă, predominanța juxtaglomerulară instalându-se gradat [192]. În trimestrul II de sarcină, activitatea reninei este de aproximativ 20 de ori mai mare decât a rinichiului adult.

Eliberarea crescută a reninei fetale este influențată de factori diverşi: hipoxia severă, hemoragia produsă prin hipovolemie şi hipotensiune, administrarea diureticelor, anestezia şi chiar laparotomia. Renina plasmatică realizează, de asemenea, creşteri ale concentrațiilor reninei fetale. La rândul său, sinteza fetală a angiotensinogenului fiind autonomă, concentrațiile acestuia cresc lent datorită imaturității funcționale hepatice.

Concentrațiile reninei plasmatice ale nou-născutului la termen reprezintă aproximativ 40% din cele materne în cazul naşterii prin cezariană [192].

Pulmonul fetal având vascularizație şi funcționalitate redusă, activitatea enzimei de conversie este ca şi în cazul reninei fetale modestă, aceasta crescând progresiv şi dependent de consumul de oxigen după naştere.

SRA fetal are un rol complementar în creştere exercitat prin intermediul angiogenezei şi vascularizației tisulare. Blocarea SRA prin inhibitori ai enzimei de conversie în timpul organogenezei are drept consecință întârzierea creşterii fetale intrauterine [192, 268]. La rândul său angiotensina II influențează dezvoltarea musculaturii netede vasculare şi echilibrul cardio-vascular fetal. Comparațiile acestor efecte cu cele de la adult sunt riscante având în vedere prezența circulației feto-placentare, existența şunturilor cardio-vasculare şi diferențele în distribuirea debitului cardiac.

5.10.5. SRA ÎN SARCINA NORMALĂ

Sarcina normală se caracterizează printr-o creştere a activității SRA de aproximativ 10 ori comparativ cu starea de negraviditate, ovarul fiind considerat principala sursă de prorenină [203, 209, 264]. Prorenina ovariană este eliberată în sângele periferic încă din primele etape ale sarcinii. Originea ovariană a proreninei este argumentată de absența creşterii acesteia la femeile cu insuficiență ovariană care au sarcini realizate prin transfer embrionar [209, 235].

În prima parte a evoluției sarcinii, SRA pare a fi sub control ovarian predominant matern. Producția crescută de renină la nivelul rinichiului matern este stimulată de relativa hipotensiune gravidică şi/sau de creşterea filtrării glomerulare producătoare de scăderea sodiului plasmatic [252]. Încă din faza secretorie a ciclului menstrual şi mai ales în primul trimestru al sarcinii apar creşteri mari ale reninei plasmatice rezultate din transformarea proreninei şi determinate probabil de influența paracrină progesteronică [266]. Progesteronul este considerat stimul major pentru SRA în sarcină

Scanned with OKEN Scanner

[193]. Concomitent, creşterea sintezei de renină stimulează secreţia de aldosteron însoţită de retenţie sodată, generatoare de hiperaldosteronism secundar de sarcină.

În primul trimestru al sarcinii, concentraţiile plasmatice ale reninei ating un maximum ce depăşeşte cu 50 până la 80% valorile din afara sarcinii [252]. Creşterile reninei se realizează sub influenţă atât estrogenică, cât mai ales progesteronică şi persistă întreaga perioadă de graviditate. Activitatea reninei plasmatice, determinată la gravidele normale în ultimul trimestru de sarcină a prezentat valori mai mari decât ale lotului martor.

La rândul său, trofoblastul sintetizează hormon lactogen şi prorenină placentară. Sinteza trofoblastică a hormonului lactogen debutează în jurul zilei a opta după implantarea produsului de concepţie, renina fiind incriminată ca factor stimulant al secreţiei acestuia [238]. Stimulul reprezentat de hormonul lactogen placentar pentru sinteza intrauterină a prolactinei inductoare de renină este de asemenea cunoscut. Prolactina plasmatică creşte după fertilizare imediat ce hormonul lactogen a apărut în circulaţie. Astfel, concentraţiile sanguine ale proreninei cresc în paralel cu cele ale hormonului lactogen placentar.

Pe de altă parte, furnizarea substratului energetic (glucoza) şi a oxigenului în perioada implantării produsului de concepţie reprezintă o condiţie importantă pentru fiziologia reproducerii. Glandele endometriale secretând glicogen, angiotensina II rezultată din cascada enzimatică a SRA placentar stimulează glicogenoliza.

Întregind activitatea SRA matern ovarian şi utero-placentar, SRA fetal contribuie prin efectele multiple loco-regionale la realizarea dezvoltării produsului de concepţie din momentul fertilizării şi până la declanşarea travaliului. S-a făcut presupunerea că angiotensina II sintetizată local în exces poate contribui la dezvoltarea precoce a sarcinii [193].

5.10.6. ROLUL SRA ŞI ECHILIBRUL HIDRO-ELECTROLITIC ÎN SARCINĂ

Sarcina normală însoţindu-se de creşterea concentraţiilor şi activităţii SRA se particularizează prin retenţie sodată şi creşterea volumului plasmatic. Ambele fenomene sunt mediate parţial de SRA [244]. La rândul lor cantităţile mari de progesteron produse în timpul sarcinii determină creşterea filtrării glomerulare şi natriureză, fenomene care duc la pierderea urinară de sodiu. La compensarea acestor pierderi intervin atât SRA, cât şi estrogenii şi dezoxicorticosteronul care realizează creşterea producţiei de aldosteron pe de o parte şi intensificarea reabsorbţiei de sodiu pe de alta [179, 195].

Scanned with OKEN Scanner

Pentru menținerea balanței sodate sunt necesare cantități mari de angiotensină II și aldosteron. În timp ce creșterea excreției sodate este activată de progesteron, factor natriuretic atrial și prostaciclină (PgI_2), diminuarea acesteia este realizată de aldosteron, angiotensină II, estrogeni, tromboxan (TxA_2) și cortizol [224]. Crescând secreția de aldosteron, angiotensina II este unul din cei mai importanți vasopresori naturali implicați în homeostazia apei și sodiului [224]. Cum s-a mai subliniat, activitatea SRA crește ca răspuns la vasodilatația caracteristică sarcinii și ca reacție la natriureza indusă de progesteron [179]. Deși concentrațiile plasmatice ale angiotensinei II cresc, receptorii angiotensinici scad numeric [193].

Acționând în sensul refacerii perfuziei renale și a menținerii homeostaziei hidrosaline, angiotensina II controlează peste 30% din transportul de sodiu la nivelul tubului proximal în vederea realizării adaptărilor impuse de sarcină [268]. Pentru a asigura activitatea fiziologică a SRA, efectele reninei plasmatice sunt de până la 10 ori mai intense comparativ cu cele din afara gravidității. Modificările componentelor sistemului renină-angiotensină în sarcina normală sunt în relație cu dieta sodată. Activitatea reninei plasmatice scade după administrarea de soluții saline și crește în cazul reducerii aportului sodat. Răspunsul reninei plasmatice la modificările dietei sodate diferă însă în trimestrul II față de trimestrul III al sarcinii. Amplificarea activității reninei plasmatice este realizată și de creșterea substratului acesteia, respectiv a conținutului plasmatic în angiotensinogen [195]. În comparație cu activitatea reninei plasmatice, renina utero-placentară răspunde mai slab la încărcarea maternă cu sodiu. Retenția hidrică se produce în primul rând în spațiul extracelular predispunând la apariția edemelor. Astfel, funcția renală este marcată de modificări importante în timpul sarcinii, începând cu creșterea cu cel puțin 50% a fluxului sanguin renal și sfârșind cu intensificarea filtrării glomerulare. Aceasta se însoțește de creșterea reabsorbției la nivelul tubilor proximali și la acumularea zilnică de 2 până la 6 mmol de sodiu. În complexul mecanism al modificărilor balanței hidro-electrolitice din sarcină intervin și estrogenii prin stimularea sintezei de angiotensină și aldosteron ca urmare a activării predominante a SRA matern. Creșterea reabsorbției sodiului la nivelul tubilor proximali este întregită de a aldosteronului la nivelul tubilor distali [268].

5.10.7. SRA ÎN REGLAREA CIRCULAȚIEI ÎN SARCINĂ

Circulația sistemică

Profilul hemodinamic al sarcinii normale este reprezentat de:
– scăderea rezistenței vasculare periferice;
– scăderea presiunii sanguine sistemice;

Scanned with OKEN Scanner

– reducerea sensibilității vasculare la acțiunea vasoconstrictoare a angiotensinei II.

Un rol important la realizarea acestor modificări hemodinamice revine endoteliului vascular. Acesta este o structură complexă activă situată la interfața sânge circulant-mușchi neted vascular, prevăzută cu capacitatea secreției unei varietăți de molecule biologic active. Endoteliul vascular este în același timp ținta constituenților plasmatici (plachete sanguine, leucocite, factori solubili) care modulează funcțiile atât ale celulelor endoteliale, cât și ale musculaturii netede vasculare. Integrarea acestor acțiuni este crucială pentru reglarea tonusului vascular prin efectele substanțelor vasoconstrictoare (endoteline, angiotensina II, tromboxan A_2) și vasodilatatoare (prostaglandina E_2, prostaciclina I_2, oxidul nitric) [208].

Sarcina normală se caracterizează prin vasodilatație și scăderea presiunii sângelui. Presiunea diastolică scade cu 7–10 mm Hg din primele săptămâni de gestație [180]. Valorile revin la normal în cursul trimestrului III. Spre deosebire de presiunea diastolică, modificările presiunii sistolice sunt minime.

Vasodilatația este explicată prin activarea prostaglandinelor vasodilatatoare [213]. Reducerea sintezei prostaciclinei I_2 este observată în preeclampsie și are drept rezultat afectarea fluxului utero-placentar. Acesta este un argument privind rolul prostaciclinei I_2 în reglarea circulației sistemice și utero-placentare [179, 202].

Sinteza de prostaciclină I_2 și prostaglandină E_2 crescută în sarcină stimulează eliberarea de renină [193, 252]. Creșterea reninei renale favorizând generarea de angiotensină II, contribuie la menținerea presiunii arteriale normale [181]. Pe de altă parte, prostaglandinele și progesteronul realizează reducerea densității și reactivității receptorilor angiotensinici. Numeroși autori consideră modificările SRA în sarcină secundare producerii de prostaglandine și prostacicline (figura 5.24).

La rândul său, SRA utero-placentar deține un rol important în reglarea fluxului sanguin uterin [193]. Activarea SRA local cauzată de afectarea fluxului sanguin regional contribuie la creșterea presiunii arteriale sistemice. Un alt factor care intervine în realizarea tonusului vascular normal în sarcină este oxidul nitric (NO). Acesta a fost identificat la nivelul tractului genital de Ignarro în 1990 și creditat cu implicații în biologia reproducerii, contribuind la:

– transportul tubar și motilitatea spermatozoizilor;
– ovulație prin intensificarea vascularizației;
– controlul funcției uterine (contracție, relaxare, vasodilatație și inhibarea agregării plachetare la nivelul endometrului);

Scanned with OKEN Scanner

– maturarea cervicală prin modelarea ţesutului conjunctiv;
– reglarea microvascularizaţiei feto-placentare [citat de 256].

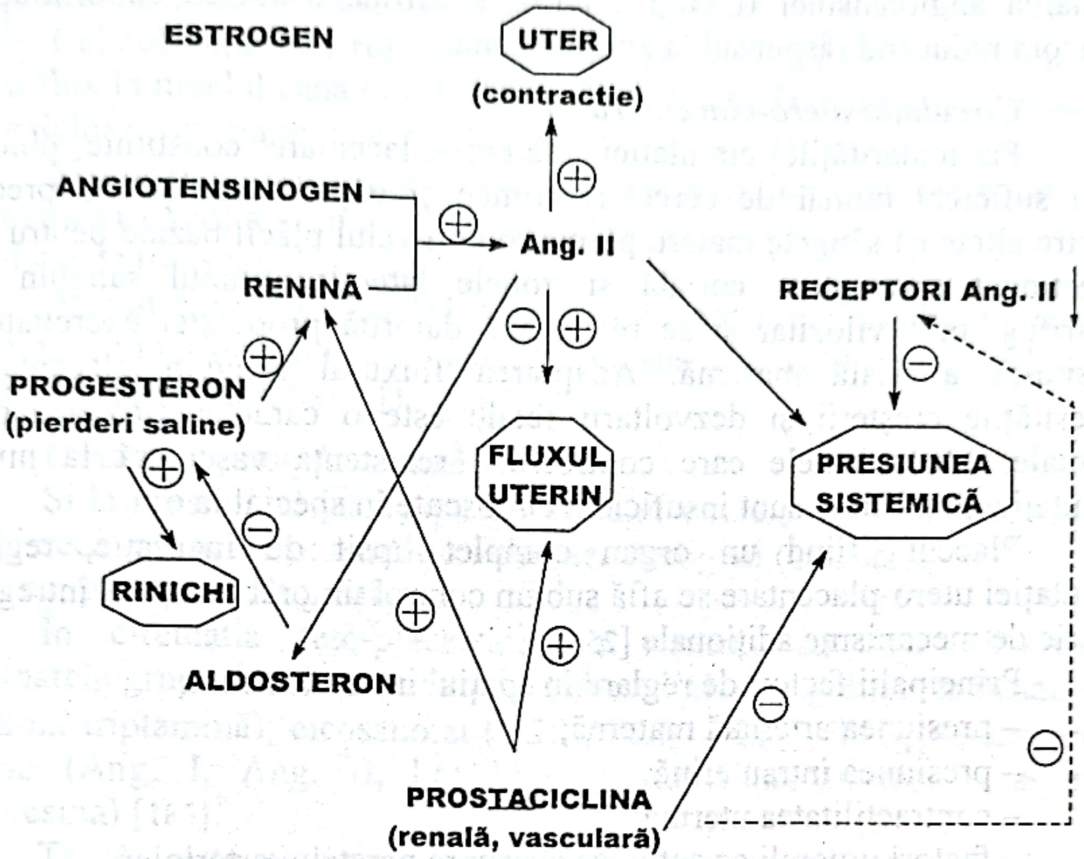


Figura 5.24. Rolul SRA în sarcină [193].

Acţiunile generale şi locale ale NO includ: vasodilataţie, inhibarea agregării plachetare, prevenirea aderării plachetelor la celulele endoteliale şi inhibarea proliferării celulare musculare [242, 256]. Aceste acţiuni contracarează parţial proprietăţile vasculare ale angiotensinei II vasopresoare [180]. De menţionat că angiotensina II intervine în controlul fluxului sanguin utero-placentar atât prin efect vasoconstrictor direct, cât şi în mod indirect asupra prostaglandinelor vasodilatatoare [252, 268].

Rezistenţa la acţiunea presoare a angiotensinei II se manifestă precoce în sarcina normală [193, 196, 219, 224]. Mecanismul de producere a acestui fenomen fiind parţial cunoscut, au fost enunţate următoarele ipoteze:

– diminuarea contractilităţii musculaturii netede vasculare, proces generalizat în sarcină;
– stimularea locală exercitată de angiotensina II asupra secreţiei factorilor vasodilatatori;
– scăderea numărului sau afinităţii receptorilor pentru angiotensină II;
– creşterea metabolizării angiotensinei II [193].

De menţionat că efectele angiotensinei II la nivelul muşchiului neted vascular deşi depind de depolarizare sunt parţial independente de potenţialul

Scanned with OKEN Scanner

transmembranar [224]. Un exemplu în acest sens îl constituie modificările ionilor de calciu ale căror concentrații plasmatice dețin un rol important în cuplarea angiotensinei II cu receptorii specifici, scăderea concentrațiilor acestora reducând răspunsul la angiotensină.

Circulația utero-placentară

Particularitățile circulației materno-placentare constituie obiectul unui suficient număr de cercetări clinice și experimentale. S-a precizat printre altele că sângele matern pătrunde la nivelul plăcii bazale pentru a fi direcționat spre placa corială și zonele laterale. Fluxul sanguin este centrifug, multivilozitar și se realizează datorită propulsiei exercitate de presiunea arterială maternă. Adaptarea fluxului sanguin placentar la necesitățile creșterii și dezvoltării fetale este o caracteristică a sarcinii normale. Mecanismele care controlează rezistența vasculară la nivelul circulației placentare sunt insuficient cunoscute în special la om.

Placenta fiind un organ complet lipsit de inervație, reglarea circulației utero-placentare se află sub un control umoral complex întregit de o serie de mecanisme adiționale [253].

Principalii factori de reglare în spațiul intervilos sunt:

– presiunea arterială maternă;
– presiunea intrauterină;
– contractilitatea uterină;
– factori umorali ce acționează asupra peretelui arteriolar.

Arterele utero-placentare înregistrează modificări structurale importante induse de invazia trofoblastică. Controlul fluxului sanguin utero-placentar este dependent de aceste modificări fiziologice. Reglarea prin factori umorali poate aduce în discuție numeroși factori:

– estrogenii determină creșteri ale fluxului în prima parte a evoluției sarcinii;
– catecolaminele scad fluxul sanguin în miometru și endometru (stimularea adrenergică poate avea importanță în reglarea activității contractile uterine; gravida are răspunsul diminuat la angiotensina II dar nu și la norepinefrină) [193].

Prostaglandinele se găsesc în aproape toate componentele tisulare utero-placentare. S-a constatat că răspunsul vascular la acțiunea prostaglandinelor diferă în segmentele extramiometriale comparativ cu cele intramiometriale. Prostaciclina I_2 și prostaglandina E_2 determină relaxarea arteriolelor intramiometriale, demonstrând rolul lor în menținerea perfuziei utero-placentare. Prostaciclina I_2 este considerată hormon vasoactiv ce produce vasodilatație, reduce presiunea sanguină și agregarea plachetară. La rândul său secreția CRF este influențată de o serie de substanțe între care și angiotensina II. CRF și ACTH favorizează, prin mecanisme paracrine,

Scanned with OKEN Scanner

eliberarea prostaglandinelor la nivelul diferitelor țesuturi intrauterine. Se consideră că CRF produce la nivelul placentei efecte vasodilatatoare mai importante decât cele induse de prostaciclina I_2 [201].

Calciul deține un rol important în activarea contractilității arteriale prin influx la nivelul canalelor membranei celulare. Tratamentul cu blocanți ai canalelor de calciu induce vasodilatație în teritoriul uterin.

Magneziul crescut determină relaxarea arterelor utero-placentare și a miometrului. Acesta stimulează totodată sinteza prostaciclinei I_2 și inhibă fluxul calcic transmembranar.

Angiotensina II exercită o influență contractilă tranzitorie asupra arterelor intramiometriale umane, explicată de scăderea sensibilității acestora la acțiune presoare [179, 269, 270].

Circulația feto-placentară

Și la acest nivel influențarea tonusului vascular este realizată de alți factori decât cei nervoși: mediatori chimici eterogeni (autacoizi), mecanisme miogene, presiunea sângelui etc.

În circulația feto-placentară, la termen, au fost identificate următoarele grupe de autacoizi: amine (adrenalină, noradrenalină, histamină, 5 hidroxi-triptamină), eicosanoizi (PGE_2, PGI_2, $PGF_{2\alpha}$, TxB_2, leucotriene), peptide (Ang. I, Ang. II, bradikinina, endotelina, oxitocina, arginin-vasopresina) [185].

Tx A_2 este eicosanoidul major eliberat de plachete. PGI_2 este produsul major al celulelor endoteliale. Ambele sunt sintetizate în vascularizația vilozitară [220].

Placenta conține un număr mare de enzime incriminate în sinteza și catabolismul autacoizilor. Blocarea sistemului kininazei II (enzima de conversie) prin inhibitori sistează capacitatea placentei de a distruge bradikinina circulantă [250]. Nu este surprinzător de ce este contraindicată utilizarea inhibitorilor EC în sarcina. Bradikinina induce constricția vaselor ombilicale și afectează circulația fetală în special la nivel pulmonar.

Vasele feto-placentare răspund la influențele vasodilatatoare și vasoconstrictoare. În mod evident mecanismele vasodilatatoare predomină în sarcina normală, fapt confirmat de explorarea Doppler (placenta are un flux regional cu o rezistență scăzută) [273].

Circulația feto-placentară este virtual areactivă la agenții vasodilatatori exogeni exceptând fondul constrictiv preexistent (TxA_2, PGI_2, Ang II). Aceasta se explică prin tonusul vascular scăzut intrinsec.

O serie de substanțe produc vasodilatație: PGI_2, VIP, ANP, nitroglicerina, teofilina, histamina, izoprenalina, NO etc.

NO este important în menținerea unei rezistențe vasculare fetale scăzute. În acest fel este redus efectul vasoconstrictorilor. Activitatea sintetazei NO este redusă în PE [187]. Aceasta argumentează faptul că NO

Scanned with OKEN Scanner

este un vasodilatator important endogen al vaselor fetale. Se sugerează că o izoformă a NOS ar fi localizată în celulele Hofbauer (prezente în mezenchimul vilozitar).

Deşi este prezentă în cantităţi mari acetilcolina nu pare să participe la controlul fluxului în circulaţia feto-placentară.

Vasele feto-placentare şi ombilicale răspund intens la stimulii vasoconstrictori. Răspunsul este diferenţiat în funcţie de calitatea autacoizilor cu acest potenţial: A II, endotelinele 1 şi 3, Tx A_2, $PGF_{2\alpha}$, leucotrienele B_4, C_4, D_4.

SRA fetal este dezvoltat în ultima parte a sarcinii şi se poate presupune că ar avea un rol în fiziologia reglării fluxului feto-placentar.

Administrarea exogenă a Ang. II induce vasoconstricţie feto-placentară. Acest efect este mai intens pe măsură ce dimensiunile vaselor scad. Blocarea Ang. II endogene nu modifică rezistenţa în teritoriul feto-placentar. S-a demonstrat că ANP induce efectul vasoconstrictor al Ang. II.

Eliberarea locală a $PGF_{2\alpha}$ reduce fluxul feto-placentar.

Placenta posedă informaţia genetică pentru producerea locală a endorfinelor 1 şi 3. Acţiunile vasoconstrictoare ale endotelinelor cresc concentraţiile intracelulare de Ca^{++}.

Hipoxia este un stimulator potenţial al eliberării endotelinelor. Acestea pot acţiona direct sau în interacţiune cu eicosanoizii cu activitate vasoconstrictoare.

Endotelina poate acţiona şi în sensul creşterii sensibilităţii la acţiunea A II [208].

SRA în travaliu

Travaliul se asociază în mod evident cu creşterea activităţii SRA. În timpul naşterii concentraţiile R, Ang., Ang. II cresc considerabil. Sursa este, probabil, SRA utero-placentar. Între explicaţiile date pentru această amplificare se citează:

– fluctuaţiile presiunii sanguine;
– stimularea simpatică;
– hipercapnia [188, 193].

Efortul fizic implică funcţionalitatea neuro-endocrină. Sistemul simpatic şi CSR au roluri în eliberarea reninei.

SRA placentar, din l.a. şi din membrane este activat în special în timpul naşterii [226]. Având capacitatea formării R, miometrul şi corionul uman acţionează ca surse potenţiale în timpul contracţiilor. Acesta ar putea explica parţial creşterea Ang. II circulante în travaliu.

Comparativ cu debutul naşterii, concentraţiile Ang. II cresc cu circa 20% la sfârşitul expulziei. A fost sugerată o relaţie între titrurile Ang. II şi durata perioadei I a naşterii.

ARP creşte în special în timpul contracţiilor şi efortului fizic [224].

Scanned with OKEN Scanner

Contractilitatea miometrului este crescută sub influența substanțelor care cresc nivelul Ca^{++} intracelular, proprietate caracteristică și Ang. II [193, 253]. Pornind de la relația legată de acțiunea ocitocică a Ang. II, s-a pus problema eventualului rol al SRA în actul parturiției.

Preocuparea personală privind eventualitatea participării SRA în acest proces complex s-a materializat prin cercetări făcute cu sprijinul Laboratoarelor de Fiziologie și Biofizică, UMF Iași.

Am constatat o creștere a ARP fără creșteri ale EC. Valorile crescute ale ARP din timpul travaliului sugerează participarea SRA la inițierea și întreținerea contractilității uterine caracteristice nașterii.

Numărul redus de cazuri incluse în cercetare nu ne-a permis decât sugerarea acestui rol într-un context cunoscut, cel al relației A II - contractilitatea miometrială (efectul stimulator al A II asupra contracției uterine și sintezei PG, prezența A II R la nivelul miometrului).

SRA și hipertensiunea arterială asociată sarcinii

Participarea SRA la desfășurarea fenomenelor ce induc dezvoltarea HTA în sarcină este interpretată diferit:

- HTA din PE nu este cauzată de creșterea activității SRA, ci de un alt factor vasoconstrictor de la nivelul unității feto-placentare;
- SRA ar avea contribuții la aceste perturbări.

Patogenia HTA indusă de sarcină nu este înțeleasă în totalitate, nu există o concepție unitară, acceptată, care să încadreze complexitatea acestei patologii.

Dificultățile studierii acestei relații sunt explicate și de absența unui model experimental (exceptând maimuța, ce poate dezvolta o condiție similară, nici o specie nu prezintă patologia de tip preeclamptic spontană).

Sunt necesare studii suplimentare pentru a clarifica rolul SRA utero-placentar în sarcina complicată cu HTA.

Nu ne propunem o abordare detaliată a acestei patogenii ci doar o relatare a ceea ce implică SRA și a aspectelor în legătură cu această participare.

În fiziopatologia HTA din sarcină sunt antrenate numeroase procese. O prezentare a celor mai discutate dintre ele va fi făcută după cum urmează:

– invazia trofoblastică anormală;
– alterarea sintezei factorilor vasodilatatori și favorizarea celor vasoconstrictori;
– leziunile endoteliale;
– devieri de la fenomenele adaptative cardiovasculare normale (scăderea volumului plasmatic și filtrației glomerulare, creșterea RVP, creșterea sensibilității la substanțele presoare);
– reducerea fluxurilor regionale.

Scanned with OKEN Scanner

SRA în preeclampsie

Fenomenul fiziopatologic central este vasospasmul. Consecințele sale sunt reducerea vascularizației și irigării organelor: uter, placentă, rinichi, creier, ficat.

Vasospasmul determină rezistența la flux și aceasta HTA [180]. Procesul se declanșează cu mult înainte de instalarea fenomenelor clinice [180, 220, 280].

Invazia trofoblastică se produce în etape diferite, inițial în decidua bazală (6–8 săptămâni), apoi în 1/3 internă a miometrului adiacent și în pereții arterelor spiralate, viitoarele artere utero-placentare (12–16 săptămâni). Acest proces fiziologic, desfășurat în doua etape, are drept rezultat dezvoltarea unui flux optim utero-placentar.

În PE, placentația este anormală, invazia se limitează la primul val sau este incompletă, trofoblastul invadând peretele muscular arterial în măsura în care să-i confere elasticitatea normală (figura 5.25.).

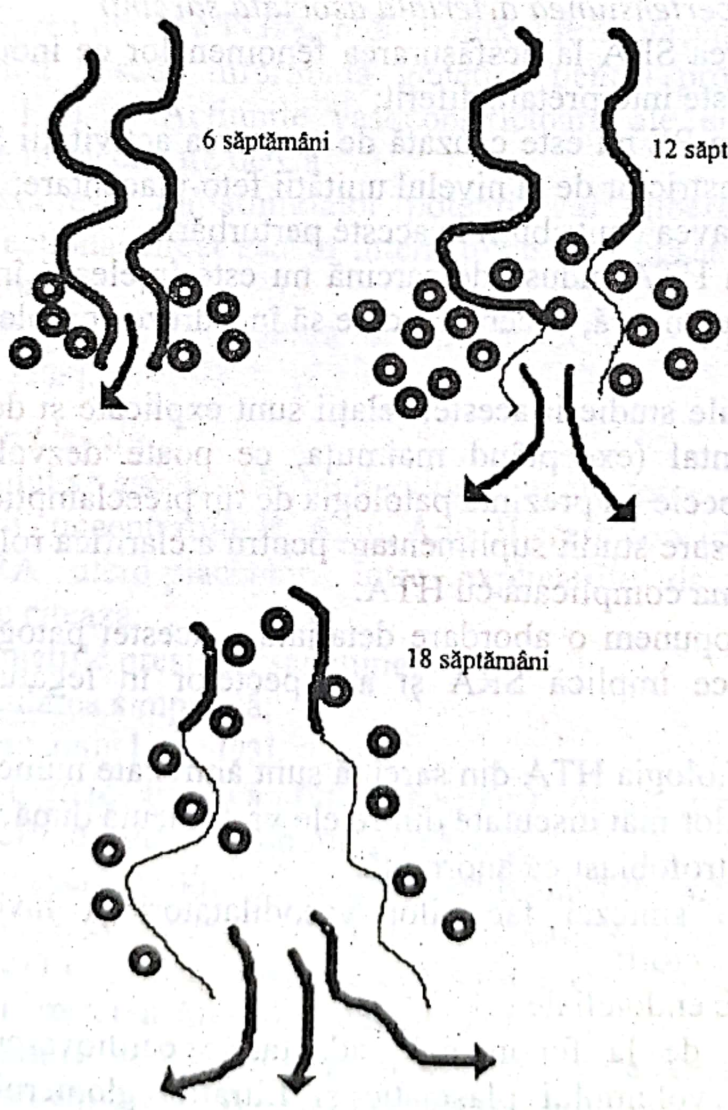


Figura 5.25. Reprezentarea schematică a invaziei trofoblastice normale în deciduă, miometru și pereții arterelor spiralate.

Scanned with OKEN Scanner

Pe de altă parte, aceste vase își vor menține sensibilitatea la acțiunea agenților vasopresori, fluxul sanguin în camera interviloasă fiind afectat.

Dezechilibrul în producerea eicosanoizilor în sectoarele uterin și fetal are o mare contribuție în patologia PE. Raportul PgI_2 /TxA_2 este inversat, fapt ce favorizează vasoconstricția [175, 179, 180, 197, 209, 214, 217, 218].

Dozele mici de aspirină inhibă formarea TxA_2 și agregarea plachetară. Efectul asupra PgI_2 este redus. Aceste doze (60 - 80 mg/zi) scad sensibilitatea la acțiunea Ang. II într-un număr mare de cazuri și sunt folosite pentru prevenirea PE [197, 209]. Dozele mai mari inhibă producerea PgI_2.

Leziunile endoteliale caracteristice PE favorizează deteriorarea echilibrului vasodilatație/vasoconstricție în direcția unei vasoconstricții nebalansate care va favoriza:

– creșterea RVP;
– hipertensiunea arterială;
– scăderea filtrației glomerulare;
– scăderea fluxului utero-placentar.

Creșterea concentrațiilor circulante de endotelină acționează ca un factor local cu potențial vasoconstrictor.

Leziunile endoteliale par a avea un rol esențial în inducerea HTA în sarcină [3]. în patogenia PE sunt incriminate următoarele funcții ale endoteliului:

– tonusul vascular;
– fixarea lipidelor;
– coagularea intravasculară;
– permeabilitatea vasculară;
– răspunsul imunologic [180, 209].

Elementele „toxice", cauzatoare ale injuriei endoteliale, ar putea fi peroxizii și/sau citokinele, factori cu origine placentară apăruți în condițiile unei perfuzii precare explicată de invazia trofoblastică anormală.

În sarcina normală concentrațiile lipidelor serice sunt crescute. în PE, trigliceridele înregistrează creșteri semnificative. Ficatul produce trigliceride care au capacitatea inducerii leziunilor endoteliale. Placenta este sursa de peroxizi lipidici. Activitatea antioxidantă a sângelui matern este deteriorată.

Peroxizii lipidici induc numeroase efecte nocive:

– aderarea neutrofilelor la endoteliu;
– inhibarea sintezei endoteliale de PGI;
– creșterea sintezei endotelinelor;
– inactivarea factorului relaxant endotelial (NO);
– stimularea formării anticorpilor antiendoteliali;
– stimularea sintezei tromboxanilor;

Scanned with OKEN Scanner

– scăderea antitrombinei III şi favorizarea coagulării [177].

Activarea coagulării prin agregare plachetară sau lezare vasculară conduce la trombocitopenie şi inhibarea activităţii anticoagulante.

Modificările permeabilităţii favorizează proteinuria şi edemul.

SRA intervine în reglarea fluxului utero-placentar. Reducerea acestui flux deţine un rol central în patogenia PE. Poate fi implicată o modificare a SRA circulant sau/şi una a SRA local [180].

Blocarea SRA la animalul gestant determină reducerea fluxului, probabil prin scăderea producerii PG. Reducerea fluxului uterin (animal) poate cauza HTA sistemică.

În sarcina normală, vascularizaţia unităţii feto-placentare impune modificări adaptative cardiovasculare şi renale exprimate, între altele, şi printr-un echilibru vasodilataţie/vasoconstricţie.

În sarcina complicată cu HTA volumul plasmatic scade [219]. Semnificaţia reducerii volumului plasmatic în PE nu este clarificată. De fapt, comportamentul hemodinamic în această patologie este variabil [268].

Reducerea volumului plasmatic poate fi şi consecinţa creşterii RVP. Această rezistenţă şi travaliul cardiac cresc datorită spasmului vascular generalizat.

Nivelele relativ reduse ale ARP, reninei plasmatice, Ang. II, Ald din PE reprezintă consecinţe ale unui răspuns inadecvat al aparatului juxtaglomerular la reducerea volumului plasmatic. Retenţia sodată poate fi consecinţa aceleiaşi reduceri a volumului plasmatic [180].

În PE, componentele SRA (R plasmatică, Ang, Ald, A II) înregistrează concentraţii scăzute comparativ cu sarcina normală, dar mai mari decât în afara sarcinii.

ARP scade, fenomen explicat prin:

– reducerea producţiei R active;

– reducerea substratului;

– insuficienta activare a RP [219].

PE se caracterizează printr-o inhibare a SRA produsă prin afectarea vasodilataţiei şi prin retenţia sodată [180].

Ang. II ar exista în exces la nivelul unităţii feto-placentare. Fixarea Ang II la nivelul plachetelor este semnificativ crescută.

Există cercetători care nu raportează diferenţe între concentraţiile A II în sarcinile normale şi cele complicate cu HTA. Acest domeniu este marcat de controverse. Au fost raportate scăderi ale A II, scăderi puse în relaţie cu severitatea formei de PE [224].

Un fapt în legătură cu care opiniile sunt unitare este cel al amplificării răspunsului la acţiunea presoare a A II [180, 184, 197, 224, 280]. Această modificare se instalează înaintea apariţiei manifestărilor caracteristice PE (HTA, proteinurie, edem) într-un interval cuprins între săptămânile 18 şi 22 ale evoluţiei sarcinii [181, 220, 270].

Scanned with OKEN Scanner

Din acest motiv perfuzia cu Ang II este un test de predicție a cazurilor ce vor dezvolta patologia hipertensivă.

Posibilele mecanisme prin care SRA local poate fi implicat în HTA din sarcină ar fi: creşterea RVP, creşterea tonusului vascular simpatic, diminuarea complianței arteriale, creşterea secreției catecolaminelor şi mineralocorticoizilor [271]. Complexitatea fenomenelor ce intervin în patogenia hipertensiunii arteriale din sarcină poate fi încadrată în schema ce urmează (figura 5.26.).

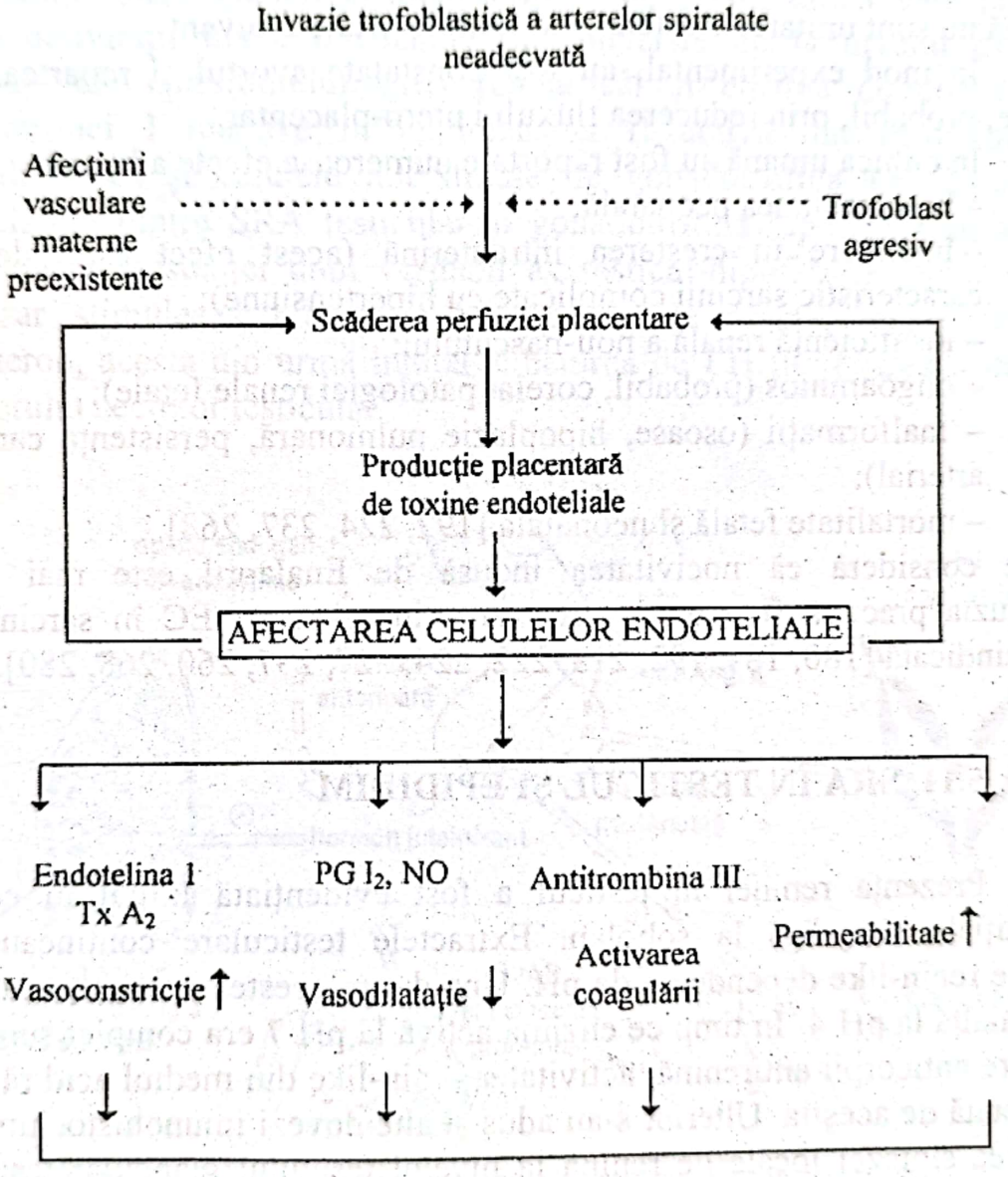


Figura 5.26. Manifestările preeclampsiei.

Utilizarea inhibitorilor enzimei de conversie (IECA) în timpul sarcinii

Inhibitorii ECA (Captopril) sunt utilizați ca agenți antihipertensivi din anul 1981. Din acest grup mai fac parte Enalapril şi Lisinopril.

Scanned with OKEN Scanner

Conform concepției tradiționale, A II este rezultatul unei cascade biochimice în care părțile componente sunt Ang (produs în ficat), R (produsă în rinichi) și EC (produsă în pulmon). Conform concepției actuale, R și A II sunt produse în numeroase țesuturi (extrarenale).

Inhibitorii EC produc vasodilatație prin blocarea conversiei A I în A II, creșterea concentrațiilor bradikininei, stimularea sintezei PG I_2 și PG E; [173, 241, 268]. Aceste substanțe traversează placenta umană [227, 260]. Efectele inhibitorii sunt mai evidente asupra SRA tisular [261].

Deși datele privind efectele adverse induse de inhibitorii EC în sarcină nu sunt unitare, aceste efecte sunt raportate frecvent.

In mod experimental, au fost constatate avortul și moartea fetală induse, probabil, prin reducerea fluxului utero-placentar.

În clinica umană au fost raportate numeroase efecte adverse:

– hipotensiunea neonatală;

– întârziere în creșterea intrauterină (acest efect este, de fapt, caracteristic sarcinii complicate cu hipertensiune);

– insuficiență renală a nou-născutului;

– oligoamnios (probabil, corelat patologiei renale fetale);

– malformații (osoase, hipoplazie pulmonară, persistența canalului arterial);

– mortalitate fetală și neonatală [192, 224, 237, 268].

Se consideră că nocivitatea indusă de Enalapril este mai gravă. Concluzia practică se impune: utilizarea inhibitorilor EC în sarcină este contraindicată [180, 184, 192, 213, 222, 224, 227, 237, 260, 268, 280].

5.11. SRA ÎN TESTICUL ȘI EPIDIDIM

Prezența reninei în testicul a fost evidențiată inițial în celulele interstițiale (Leydig) la șobolan. Extractele testiculare conțineau două enzime renin-like dependente de pH. Una dintre acestea era activă la pH 7, iar cealaltă la pH 4. În timp ce enzima activă la pH 7 era complet suprimată de către anticorpii antirenină, activitatea renin-like din mediul acid rămânea neafectată de aceștia. Ulterior s-au adus și alte dovezi imunohistochimice în favoarea sintezei locale de renină la nivelul țesutului glandular testicular, Atât prezența ARN mesager specific reninei cât și activitatea acesteia în culturi de celule Leydig a fost demonstrată *in vivo* și *in vitro* [176, 247].

Renina testiculară are greutate moleculară similară cu a reninei renale (39 000 Da) și este dependentă ca și în cazul steroidogenezei testiculare de secreția de LH hipofizar. Hipofizectomia la șobolan cauzează nu numai atrofie testiculară, ci și suprimarea imunoreactivității celulelor

Scanned with OKEN Scanner

Leydig la renină [247]. În prezent se admite că biosinteza reninei şi steroidogeneza sunt sub controlul reglator comun al LH hipofizar şi gonadotrofinei corionice mediat de AMP ciclic.

Cantităţi dozabile de angiotensinogen şi enzimă de conversie au fost identificate atât la nivelul celulelor interstiţiale cât şi în epididim şi plasma seminală.

În afara secreţiei de renină, gonadotrofinele hipofizară (LH) şi corionică stimulează sinteza locală şi de angiotensină. Prezenţa în concentraţii mari a angiotensinei II în lichidul epididimar este pusă pe seama activităţii înalte a enzimei de conversie de la nivelul celulelor epiteliale ale epididimului. Atât renina cât şi enzima de conversie a angiotensinei I inactive în angiotensină II activă din epididim sunt dependente ca şi celulele interstiţiale de gonadotrofina LH hipofizară. Interrelaţiile dintre SRA testicular şi gonadotrofina hipofizară au sugerat posibilitatea existenţei unui veritabil ax testicul-hipofiză. În timp ce LH hipofizar stimulează biosinteza şi secreţia de renina, angiotensină şi testosteron, acesta din urmă inhibă eliberarea de LH în vederea restabilirii echilibrului secretor testicular.

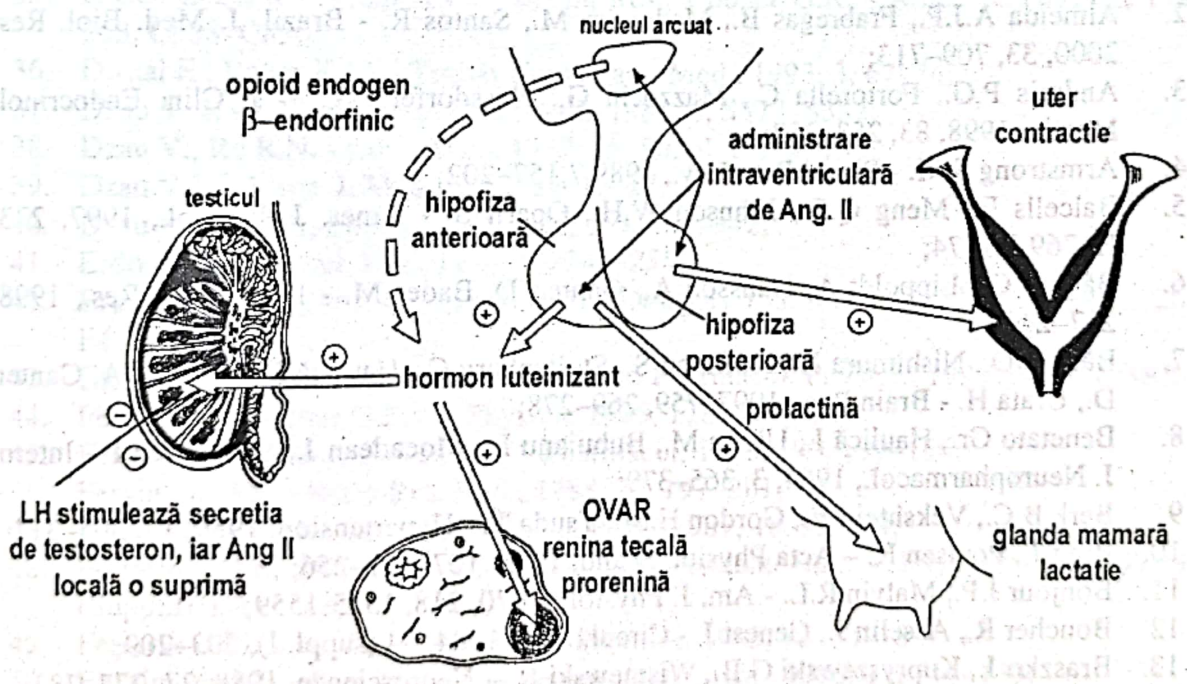


Figura 5.27. Acţiunile angiotensinei II asupra aparatului reproductiv masculin şi feminin [194].

Pe plan funcţional s-a stabilit că angiotensina II activă exercită efecte paracrine şi autocrine locale la nivelul celulelor testiculare interstiţiale pe de o parte şi asupra teritoriului epididimar al căilor spermatice pe de alta parte.

Scanned with OKEN Scanner

Ambele efecte se realizează prin intermediul receptorilor angiotensinici ai celulelor Leydig şi epiteliului epididimar.

Prin acţiunea autocrină angiotensina modulează în sens inhibitor steroidogeneza gonadotrofin-dependentă [20] şi reglează transportul ionic şi lichidian la nivelul celulelor epiteliale epididimare, izolate de circulaţia sanguină de bariera epididim-sânge. Prin acţiunea paracrină angiotensina stimulează contracţia tubilor seminiferi contribuind la transportul spermatozoizilor. La rândul său, angiotensina circulanta acţionând asupra complexului hipotalamo-hipofizar determină eliberare de LH stimulator al secreţiei de testosteron. Ansamblul consecinţelor morfo-funcţionale gonadale ale acţiunilor exercitate de angiotensină asupra axului hipotalamo-hipofizar sunt prezentate în figura 5.27.

În comparaţie cu SRA ovarian şi utero-placentar, rolul normal şi patologic al SRA testicular este mai puţin studiat.

Bibliografie

1. Agostini A., Reinhard A-, Vallaton M.B. - Neuroendocrinol, 1982, 35, 457–463;
2. Almeida A.J.P., Frabregas B., Madureira M., Santos R. - Brazil. J. Med. Biol. Res. 2000, 33, 709–713;
3. Andreis P.G., Fortorella C., Mazzochi G., Nussdorfer G.C. – J. Clin. Endocrinol. Metab., 1998, 83, 253–257;
4. Armstrong S.M. - Pineal Res. Rev., 1989,7,157–202;
5. Balcells E., Meng Q.C., Johnson W.H., Oparil S. - Amer. J. Physiol., 1997, 273, H1769-H1774;
6. Bălţatu O., Lippoldt A, Hansson A., Ganten D, Bader M. - Mol. Brain Res., 1998, 237–242;
7. Bălţatu O., Nishimura H., Hoffman S., Stoltenberg G., Haulică I., Lippoldt A, Ganten D., Urata H. - Brain Res., 1997, 759, 269–278;
8. Benetato Gr., Haulică I., Uluitu M., Bubuianu E., Mocadean J., Ştefănescu P - Intern. J. Neuropharmacol., 1964, 3, 365–370;
9. Berk B.C., Vekshtein V., Gordon H.M., Tsuda T. - Hypertension, 1989, 13, 305–314;
10. Bing J., Poulsen K. – Acta Physiol. Scand, 1979, 107, 251–256;
11. Bonjour J.P., Malvin R.L. - Am. J. Physiol., 1970, 218, 1555-1559;
12. Boucher R., Asselin J., Genest J. - Circul. Res., 1984, 34 (suppl. I), 203–209;
13. Braszko J., Kupryszewski G.B., Wisniewski K. – Neuroscience, 1988, 27, 777–783;
14. Braszko J., Rogowski F., Wisniewski K. - Polish J. Pharmacol. Pharmacy, 1986, 38, 349–357;
15. Brosnihan K.B. - Am. J. Cardiol., 1998, 82, 10A, 175–195;
16. Brosnihan K.B., Schiavone M.T., Sprunger A., Chappell M., Ferrario C.M. - Hypertension, 1998, suppl. I, 11, 2, 158–162;
17. Brown J., Davies D.L., Dvak P.B., Lever A.F. - Lancet, 1964,11, 64–66;
18. Buckley J.P., Jundhyala B.S., Doursout M.F., Huang I., Chelly J.E. - J. Physiol. Paris, 1984, 79, 485–490;

Scanned with OKEN Scanner

6. SISTEMUL RENINĂ-ANGIOTENSINĂ ÎN PATOLOGIA CARDIO-VASCULARĂ

Cunoştinţele asupra SRA au progresat lent, începând din 1898, când Tigerstedt şi Bergman au evidenţiat efectul presor al extractului de rinichi, efect atribuit unei substanţe ipotetice denumită „renină". Cercetările ulterioare au fost experimentale, iar clinicienii deşi au devenit mai interesaţi de posibilele implicaţii ale SRA după 1934 când Goldblatt a realizat modelul experimental de HA la câine, implicaţiile practice ale acestui spor de cunoştinţe au fost reduse. Ulterior, descoperirea aldosteronului în 1952 şi a rolului său în homeostazie, ca şi sintetizarea spironolactonei în 1959, au dus după doar 5 ani la utilizarea ei în terapie. În anii următori rezultatele cercetărilor fundamentale au trecut rapid în cercetarea clinică, iar rolul SRAA sistemic în homeostazie şi în fiziopatologia HA şi IC a interesat tot mai mult clinicienii, mai ales după creşterea accesului la dozarea componentelor acestui sistem şi a apariţiei medicamentelor care le antagonizează: spironolactona, betablocantele şi IECA.

Componenta tisulară a SRA a fost cunoscută şi studiată în cercetarea fundamentală încă din anii '70, dar neavând aparent implicaţii practice clinicienii au ignorat-o. Lărgirea utilizării IECA în HA şi ca vasodilatatori în IC a dus la observaţii care nu puteau fi explicate prin efectele sistemice ale SRA. Ca urmare, interesul pentru SRA tisular a crescut, iar numeroase studii efectuate şi sintetizate în anii '80–'90 de către cercetători cu viziune interdisciplinară, fundamentală şi clinică, au determinat schimbări conceptuale pe care clinicienii şi le-au însuşit. Rezultatul a fost creşterea numărului de studii clinice mai ales asupra IECA şi ulterior asupra ARA şi spironolactonei. Aceste studii care au sugerat efecte favorabile ale antagonizării SRAA în HA, IC şi mai nou în evoluţia aterosclerozei coronariene, au dus la organizarea de trialuri multicentrice mari în care au fost recrutaţi mii de pacienţi. Rezultatele acestor studii au produs dovezi ferme asupra eficienţei medicamentelor testate având consecinţă extinderea rapidă a utilizării lor în practică. Unele efecte ale antagoniştilor SRA nu puteau fi însă explicate pe baza cunoştinţelor existente. Exemple de acest fel sunt reducerea riscului de recidivă de infarct sub IECA în studiile SAVE [1] şi SOLVD – Prevention [2], a aritmiilor maligne sub IECA în studiul VHeFT II [3], a morţilor subite după IMA la pacienţii trataţi cu IECA [4] şi a efectului mai mare asupra supravieţuirii al enalaprilului în comparaţie cu asocierea ISDN – hidralazină, deşi în trialul VHeFT II ultima asociere a crescut mai mult FEVS decât enalaprilul [3]. Aceste rezultate neprevăzute

Scanned with OKEN Scanner

au dus la stimularea şi finanţarea cercetării fundamentale ţintită pe aceste aspecte şi la nerăbdarea clinicienilor de a introduce cât mai rapid rezultatele cercetărilor experimentale în studii clinice şi eventual în practică.

Consecinţele acestor evoluţii din ultimul deceniu au fost fundamentarea ştiinţifică a unor intervenţii farmacoterapeutice şi extinderea lor în practică cu rezultate benefice în multe boli cardiovasculare. Este adevărat că unele aspecte ale conceptului actual legat de SRAA sunt încă neclare şi speculative, dar efortul de cercetare este intens, progresele sunt rapide şi este de aşteptat ca multe din rezultatele cercetărilor în curs de derulare să fie preluate şi utilizate rapid de clinicieni.

Pe baza cunoştinţelor actuale şi din punct de vedere al clinicianului, implicaţiile SRAA circulant şi tisular în unele boli cardiovasculare pot fi rezumate după datele din tabelul 6.1.

Schimbările majore în evaluarea şi terapia bolilor cardiovasculare survenite în ultimele două decenii şi aplicarea lor la scară mondială au rezultat din apariţia şi extinderea conceptului medicinei bazate pe dovezi („evidence based medicine"). Principiul acestui concept este stratificarea importanţei studiilor clinice după modul lor de organizare. Cele mai concludente sunt considerate trialurile prospective randomizate în care sunt recrutaţi un număr mare de pacienţi cu caracteristici riguros predefinite, la care se cercetează efectele unui preparat versus placebo sau versus alt preparat în regim „dublu orb". Rezultatele acestor trialuri sunt criticabile deoarece ele au fost obţinute la o cazuistică selecţionată care nu se suprapune întru totul cu pacienţii trataţi curent de către medicii practicieni, iar programul riguros de urmărire în trialuri este de asemenea diferit de cel practicat în teren. Cu toate aceste limite, rezultatele trialurilor sunt aplicate în prezent în toată lumea şi ele apar în ghidurile de evaluare şi de tratament editate periodic de societăţi profesionale naţionale şi internaţionale [5–10].

Trialurile clinice care au impus în practică antagoniştii SRAA au fost de tipul menţionat mai sus, iar lista acestor trialuri cu acronimele utilizate curent, inclusiv în acest material, este prezentată într-o anexă la sfârşitul lucrării.

6.1. SISTEMUL RENINĂ-ANGIOTENSINĂ-ALDOSTERON ÎN INSUFICIENŢA CARDIACĂ

6.1.1. DEFINIŢIA INSUFICIENŢEI CARDIACE.

Deşi nu există o definiţie unică, este în prezent acceptat faptul că IC este un sindrom clinic manifestat prin simptome (dispnee, oboseală) şi semne produse de retenţia hidrică (congestie, edeme), asociate unei disfunc-

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 6.1. Sistemul renină-angiotensină-aldosteron în patologia cardiovasculară

	Boli C-V	Intervenția SRA	Frecvență	Implicații clinice	Implicații terapeutice
SRA circulant	Hipertensiune H.E. cu renină crescută	Precoce	Mică	Risc crescut de evenimente CV	IECA sau ARA
	HRV	Precoce	Mică	Risc crescut de evenimente CV	IECA sau ARA
	H.E. cu renină normală	Precoce	Mare	Risc crescut de evenimente CV	IECA sau ARA incluse în schema de tratament
	H.E. tratate cu diuretice	Precoce	Mare	Risc crescut de evenimente CV neclar, probabil crescut	IECA sau ARA incluse în schema de tratament
	Hiperaldosteronism primar	Precoce (renină joasă)	Mică	Răspunsul TA și al hipopotasemiei la spironolactonă	Spironolactonă în doze mari ca alternativă la chirurgie
	Insuficiență cardiacă condiții acute (IMA, miocardite)	Tranzitorie, de mică amplitudine	Mare	Vasoconstricție Creștere pre- și postsarcină	IECA precoce în IMA
	Insuficiență cardiacă ușoară-moderată tratată cu diuretice	Precoce	Mare	Remodelare geometrică și structurală (?) neclare Posibil progresivitatea IC	IECA
	Insuficiență cardiacă severă-avansată	Tardiv	Mare	Progresivitate, Rezistență la tratament	IECA + Spironolactonă
SRA tisular	Hipertensiune	Precoce (?)	Mare	Hipertrofie și remodelare structurală cardiacă și vasculară (?)	IECA sau ARA ca preparate de primă linie (?)
	Insuficiență cardiacă disfuncție sistolică VS, asimptomatică, forme ușoare-medii	Precoce	Mare	Remodelare cardiacă și vasculară	IECA – medicație de primă linie
	severe-avansate	Tardiv	Mare	Remodelare cardiacă și vasculară	IECA + Spironolactonă sau ARA
	Cardiopatie ischemică	?	Mare (?)	Progresia și instabilitatea leziunilor aterosclerotice	IECA? (trialuri în derulare)

Scanned with OKEN Scanner

ții cardiace, în prezența unei cardiopatii. O caracteristică importantă a acestui sindrom este progresivitatea care în final duce la deces [11, 12].

Importanța acestei definiții constă în diferențierea manifestărilor clinice de disfuncția cardiacă ce este o noțiune fiziopatologică și care poate evolua un timp asimptomatic [13]. Disfuncția VS mai ales sistolică, recunoscută în practică cel mai des prin FE sub 40% determinată de regulă ecocardiografic, poate fi deci asimptomatică, iar intervențiile terapeutice în acest stadiu pot întârzia apariția IC [1, 2, 14].

Prezența disfuncției sistolice sau mai rar exclusiv diastolice, constituie un criteriu obligator asociat simptomelor pentru a defini și stabili diagnosticul de IC [5, 8, 11]. Între gradul alterării performanței cardiace și simptome nu există o concordanță. Disfuncții VS severe cu FE joasă pot fi asimptomatice și invers, disfuncții VS moderate se pot asocia cu tablou clinic de IC severă. Explicația acestui fapt este dată de intervenția unor factori extracardiaci [13] care au variații individuale mari. Alterarea performanței cardiace, apariția simptomelor și progresia IC sunt rezumate în figura 6.1.

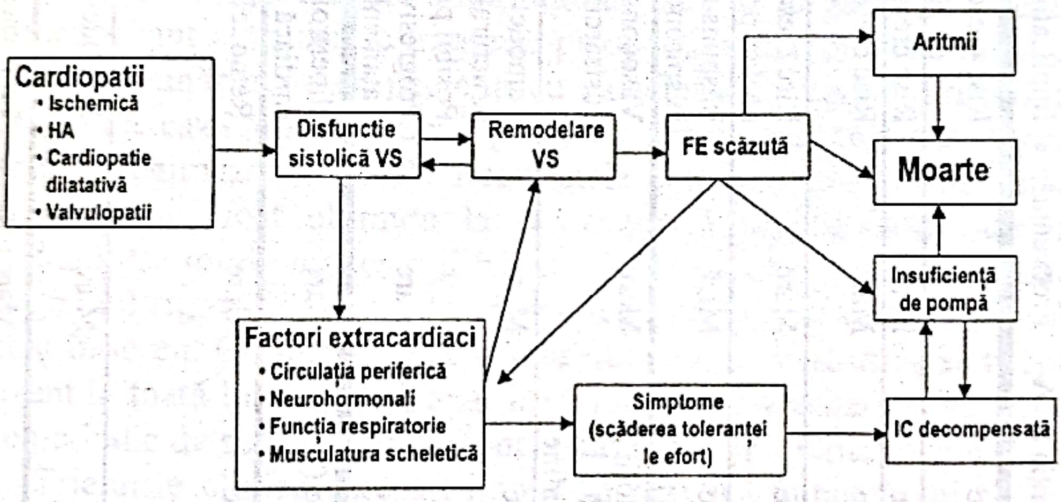


Figura 6.1. Mecanismele producerii disfuncției cardiace, a simptomelor și a progresivității IC [modificat după 13].

Conceptul rezumat în această figură explică de ce intervențiile care ameliorează simptomele sau cresc acut FE nu influențează evoluția IC sau chiar cresc mortalitatea [14, 15], iar intervențiile asupra remodelării VS, mai ales prin antagonizarea activării neurohormonale, pot reduce progresia IC și mortalitatea chiar dacă inițial nu au efect asupra simptomelor [16].

6.1.2. EVOLUȚIA CONCEPȚIILOR ÎN IC ȘI IMPLICAȚIILE CONCEPTULUI NEUROHORMONAL ACTUAL.

IC este o boală progresivă, care deși poate fi ameliorată prin intervenții terapeutice, evoluează spre agravare și deces. Cauza

Scanned with OKEN Scanner

progresivității IC nu a fost înțeleasă până în ultimul deceniu, deşi tulburările hemodinamice au fost bine cunoscute. Evoluția conceptelor în IC s-a bazat pe cercetarea tulburărilor hemodinamice, a răspunsului la tratament la intervenții asupra acestor tulburări şi progresivitatea IC. Modelele conceptuale propuse de-a lungul timpului sunt prezentate în tabelul 6.2. după Packer [17]. Trebuie avut în vedere că aceste concepte nu se exclud, ci sunt complementare.

Tabelul 6.2. Evoluția modelelor conceptuale în IC [modificat după 17]

Conceptul	Implicații terapeutice	Validare	Limite
IC este o tulburare cardiorenală: -scăderea performanței cardiace -expansiunea volumului (anii 1940–1960)	Digitala (creşte performanța) Diureticele (depleție hidrică)	Ameliorarea simptomelor	-Persistența tulburărilor cardiocirculatorii -Progresia IC -Fără efect pe supraviețuire
IC este o tulburare cardiocirculatorie: -vasoconstricție (anii 1970–1980)	Vasodilatatoarele (reduc pre- şi postsarcina)	Ameliorarea suplimentară a simptomelor	-Progresia IC -Fără efect evident pe supraviețuire -Absența unei relații între modificările hemodinamice şi clinice
IC este asociată cu o activare neurohormonală cu rol major în evoluția sindromului	Medicamente: •care antagonizează activarea NH (IECA, ARA, betablocante, spironolactonă, digitala!) •inotropicele nedigitalice care cresc activarea neurohormonală	Ameliorează: simptomele evoluția supraviețuirea Ameliorează simptomele şi hemodinamica; cresc mortalitatea (!)	-Răspuns incomplet la tratament -IC continuă să fie o boală progresivă

Scanned with OKEN Scanner

Conceptul neurohormonal este validat în prezent prin cercetări care au arătat creşteri ale concentraţiei diverşilor neurohormoni în sânge (tabelul 6.3.) şi prin relaţia dintre efectul intervenţiilor asupra acestora şi evoluţia IC [12, 13, 16, 18–22].

Tabelul 6.3. Activarea neurohormonală în IC
[reprodus cu permisiune, 189]

Componentă	Efecte	Intervenţii, efecte clinice +/- *Stimulare*	*Antagonizare*
SN vegetativ • Activitate simpatică crescută • Scăderea activităţii parasimpatice	- inotropism+ - vasoconstricţie - aritmii - remodelare C şi V - activare SRA, E - retenţie hidrosalină - progresivitatea IC	inotropice nedigitalice vasodilatatoare directe	- β–blocante + - digitala +
SRA	- remodelare C şi V - vasoconstricţie - retenţie hidrosalină - activare: • aldosteron • endoteline • SN vegetativ - progresia IC	diuretice puternice (?)	- IECA + - ARA + - digoxin +
Aldosteronul	- remodelare C şi V - retenţie hidrosalină - depleţie de K^+ şi Mg^{++} (aritmii) - progresia IC	diuretice puternice (aritmii maligne)	spirono-lactonă + - ARA + - IECA +
Arginin vasopresina	- vasoconstricţie - retenţie hidrosalină - hiponatremie dilucională - progresia IC	forţarea diurezei – (hiponatremie)	?
Endotelinele	- F. creştere-remodelare vasculară - vasoconstricţie - hipertensiune pulmonară în IC	—	Bosentan +
Citokine (FNT-alfa, IL-1-beta)	- inotropism negativ - scăderea TA - caşexia cardiacă - radicali liberi, apoptoză (?) - accelerarea progresiei IC	—	?
Peptidele natriuretice	- antagonizează: • creşterea tisulară • retenţia hidrosalină - vasodilatator	Inhibitorii endopeptida-zelor neutre + (reduc inactivarea)	—

Scanned with OKEN Scanner

Prescurtări: C: cardiacă
Efecte clinice +/- asupra morbidității și mortalității legate de IC
E: endotelinele
F: factor
FNT: factorul necrotic tumoral
IL: interleukine
TA: tensiune arterială
V: vasculară

Medicamentele care produc sau cresc activitatea neurohormonală, deși ameliorează simptomele și tulburările hemodinamice, accelerează evoluția IC și cresc mortalitatea. Astfel de efecte au fost găsite pentru toate inotropicele nedigitalice [12, 15]. Invers, intervențiile care antagonizează și reduc activarea neurohormonală (IECA, betablocantele, spironolactona) reduc progresivitatea bolii și pot prelungi supraviețuirea chiar dacă ele pot avea inițial un efect agravant pe simptome, așa cum se intâmplă uneori sub tratament betablocant [11, 12].

Componentele activării neurohormonale în IC sunt rezumate în tabelul 6.3. iar rolul lor în progresivitatea IC este prezentat în figurile 6.1 și 6.4.

Exceptând peptidele natriuretice atriale care antagonizează retenția hidrosalină și vasoconstricția, toate celelalte componente contribuie la agravarea și progresivitatea IC.

Efectele favorabile ale intervențiilor farmacologice sunt în prezent documentate prin trialuri mari pentru SRAA și activitatea simpatică crescută. Date experimentale și clinice promițătoare există pentru medicamente care antagonizează endotelinele (bosentan) și enzima care inactivează peptidele natriuretice atriale (endopeptidazele neutre) [18, 19].

6.1.3. SISTEMUL RENINĂ-ANGIOTENSINĂ-ALDOSTERON CIRCULANT ȘI TISULAR ÎN INSUFICIENȚA CARDIACĂ

În prezent sunt dovezi după care cele două componente ale sistemului există, între ele sunt diferențe în ce privește momentul intervenției în evoluția IC și probabil în modul de acțiune.

6.1.3.1. SRAA CIRCULANT ÎN IC

SRAA circulant este o componentă principală a mecanismelor homeostatice care controlează volumul circulant și bilanțul sodic. În hipovolemii intervenția acestui sistem este promptă și tranzitorie, el revenind la nivelul bazal odată ce anomalia este corectată. Activarea sistemului se face nediferențiat, indiferent de cauza hipovolemiei. În IC scăderea DC este percepută de receptori drept scădere de volum circulant efectiv cu rezultat activarea sistemului și retenție hidrică.

Scanned with OKEN Scanner

Creşterea ARP şi de Ang II circulantă, alături de aldosteron, PNA, AVP şi de NE au fost găsite frecvent crescute la pacienţi cu IC [12, 16, 22–25]. Mai mult, în trialul CONSENSUS, în care au fost recrutaţi pacienţi cu forme severe de IC (clasa NYHA IV), a existat o relaţie strânsă între prezenţa şi amplitudinea creşterii ARP şi a aldosteronului şi prognostic pe de o parte şi răspunsul la tratamentul cu enalapril pe de altă parte [22]. La majoritatea pacienţilor cu forme uşoare – moderate de IC, componentele SRAA şi ale altor neurohormoni sunt însă în limite normale [2]. Pe de altă parte răspunsul SRA, al aldosteronului şi al NE este diferit în edeme cardiace de etiologie diferită. Astfel Anand, Ferrari şi colaboratorii [23, 24] au găsit ARP şi NE crescute la nivele asemănătoare la pacienţi cu IC ischemică severă, cu pericardită constrictivă şi cu cord pulmonar cronic. Creşterea aldosteronului a fost impotantă dar nu constantă doar la cazurile cu IC ischemică, deşi retenţia hidrică a fost găsită asemănătoare. Explicaţia acestor diferenţe nu este clară. Creşterile importante ale componentelor circulante ale SRA apar mai ales în perioada de constituire a edemelor, după care sistemul se stabilizează la un conţinut mai mare de apă şi de sodiu, cu revenirea la normal a ARP şi a aldosteronului [24].

O activare tranzitorie a SRA şi a aldosteronului circulant poate fi intâlnită în suferinţe cardiace acute, cum este IMA [25], sau sub tratament diuretic [26, 27]. În trialul SOLVD – Prevention în care au fost recrutaţi pacienţi cu disfuncţie VS asimptomatică a fost găsită o creştere inconstantă şi de mică amplitudine a ARP alături de alţi neurohormoni [2].

Efectele creşterii activităţii SRA circulant sunt vasoconstricţia cu creşterea pre- şi postsarcinii, contribuţie la retenţia hidrosalină, potenţarea acţiunii NE şi a E cu consecinţe favorizarea ischemiei miocardice, a aritmiilor şi accelerarea remodelării structurale miocardice şi în general a progresiei IC (tabelele 6.1. şi 6.3. şi figura 6.4.).

6.1.3.2. SRA MIOCARDIC

Antagonizarea SRA s-a dovedit benefică şi la pacienţii cu disfuncţie VS asimptomatică sau în forme uşoare – medii de IC, în care valorile ARP sunt adesea normale [1, 2, 20, 25], efect ce nu putea fi explicat printr-o intervenţie asupra SRA circulant. Recent toate componentele SRA, respectiv renina, Ang I, Ang II, ECA şi receptorii AT_1 si AT_2 au fost identificate în miocard [28-36]. Efectele stimulării receptorilor AT miocardici, pentru care există în prezent argumente experimentale [37, 38, 174], sunt rezumate în tabelul 6.4.

În condiţii normale, efectele care stimulează creşterea miocitară, a fibroblaştilor, a producerii de colagen şi vasoconstricţia coronariană, efecte mediate de receptorii AT_1, au de fapt efect trofic şi sunt în echilibru cu

Scanned with OKEN Scanner

acţiunea opusă a receptorilor AT_2 şi a bradikininei. Activarea anormală a SRA miocardic este declanşată de creşterea wall stress-ului parietal al VS [12, 34–36] (figura 6.4.) şi are drept consecinţă hipertrofia miocitară, proliferarea fibroblaştilor şi producerea în exces a colagenului, vasoconstricţie coronariană şi creşterea consumului de O_2 prin efect inotropic.

Studii experimentale au arătat că aceste efecte sunt asociate cu creşterea concentraţiei miocardice a ECA şi a densităţii receptorilor AT_1. Pretratamentul cu IECA sau cu ARA previn sau atenuează aceste efecte direct sau prin creşterea locală a bradikininei în cazul administrării IECA [32–36]. Mai mult, administrarea intracoronariană a unui IECA a produs o ameliorare a proprietăţilor diastolice alterate ale VS la pacienţi cu stenoză aortică. Acest efect s-ar explica printr-o acţiune de creştere a relaxării miocardice a IECA fie direct prin antagonizarea efectului A II asupra miocitelor, fie indirect prin vasodilataţie coronariană produsă tot direct sau prin creşterea nivelului bradikininei locale [39].

Tabelul 6.4. Receptorii AT şi efectele stimulării lor în IC şi HA [modificat după 84]

AT_1	AT_2
- Vasoconstricţie (sistemică, renală, coronariană)	- Vasodilataţie
- Retenţie de apă şi sodiu (stimulare Aldo)	- Diferenţiere celulară
- Hipertrofie miocitară şi a fibrelor musculare netede din artere	- Efect reparator în ţesut lezat
- Efect citotoxic pe miocite	- Efect antiproliferativ
- Hiperplazia fibroblaştilor miocardici	- Inhibitor al creşterii celulare
- Fibroză miocardică şi a peretelui arterial (favorizează depunerea de colagen)	
- Stimul pentru endoteline şi AVP	
- Formare de superoxizi	
- Stimul pentru citokine	
- Favorizează apoptoza	
- Reduc fibrinoliza (activarea PAI-1)	

6.1.3.3. SRA VASCULAR

Cercetări experimentale mai vechi au arătat că toate componentele SRA există şi în artere, iar Ang II poate fi generată în vase independent de Ang II circulantă. ECA a fost găsită mai ales în endoteliul arterelor şi venelor, dar şi în adventicea şi media aortică, fapt ce sugerează posibilitatea producerii Ang II de către fibrele musculare netede din peretele aortic [34].

Scanned with OKEN Scanner

Ca şi în cazul miocardului, SRA local constituie un factor de creştere pentru fibrele musculare netede şi fibroblaşti. Ang II are efect vasoconstrictiv direct, prin stimularea producerii de endoteline şi prin facilitarea efectului NE şi a AVP şi indirect prin reducerea producţiei de bradikinină şi de NO [34] (figura 6.2.).

Argumentele pentru intervenţia SRA vascular în HA au fost aduse de studii care au cercetat efectele IECA asupra structurii şi funcţiei arterelor în diverse modele experimentale la şobolan [34, 157]. La om astfel de studii sunt puţine, dar în concordanţă cu cele experimentale. Astfel, Benetos şi Santoni au arătat că administrarea intravenoasă de perindoprilat la hipertensivi produce, pe lângă scăderea TA şi creşterea fluxului sanguin la artera brahială, o creştere a complianţei şi a diametrului acestei artere, efecte ce nu pot fi explicate doar prin acţiunea sistemică a perindoprilatului [40]. Un alt argument indirect îl constituie reducerea raportului perete/lumen la arterele subcutanate după 9 luni de tratament antihipertensiv (Sihm şi colab., citaţi de 34].

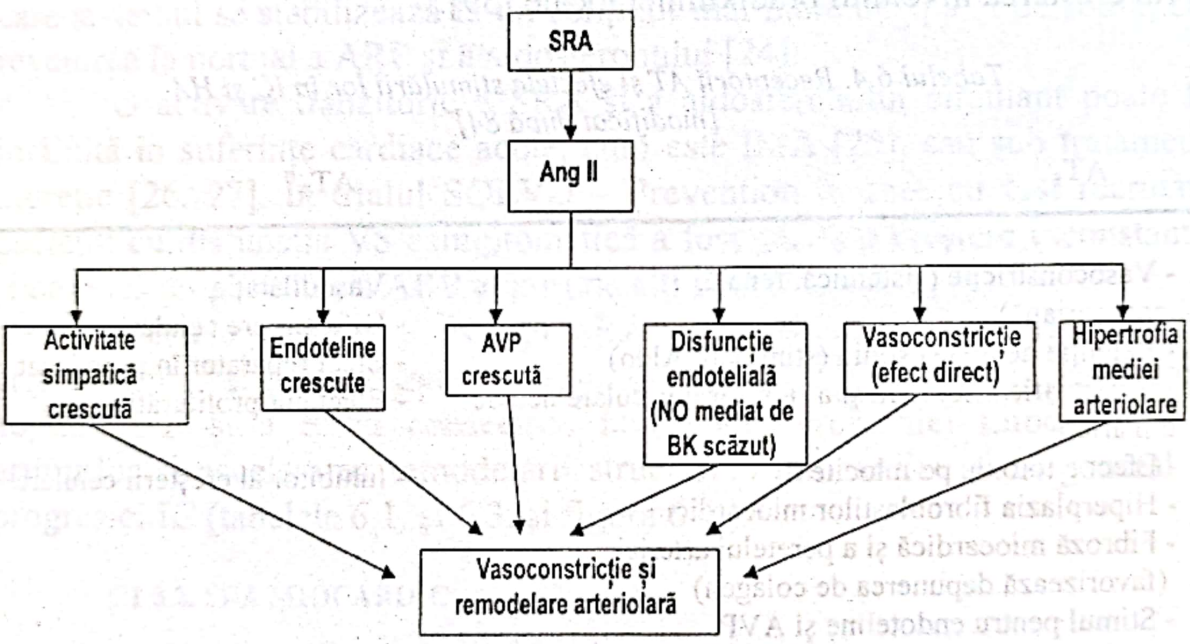


Figura 6.2. Vasoconstricţia şi remodelarea arteriolară în IC: rolul SRA şi relaţia lui cu alţi factori neurohormonali (BK: bradikinină).

În IC şi HA, SRA vascular stimulează creşterea fibrelor musculare netede şi proliferarea de colagen în peretele vascular, efecte care produc o creştere a rezistenţei arterelor mici şi o scădere a complianţei arterelor mari. Aceste aspecte sunt prezentate mai pe larg în paragrafele următoare.

6.1.3.4. SRA DIN RINICHI

Pe lângă mecanismul bine cunoscut de producere de Ang II din Ang I circulantă sub acţiunea reninei generate de aparatul juxtaglomerular, toate

Scanned with OKEN Scanner

componentele SRA au fost găsite şi în endoteliul vaselor renale. SRA local renal pare activat în IC, când produce o creştere mai mare a tonusului arteriolelor eferente, efect care asigură o fracţie filtrată crescută şi menţinerea FG în condiţiile scăderii perfuziei renale. SRA renal pare să răspundă prompt la aportul de sodiu, iar reducerea acestui răspuns explică după Hollenberg şi Williams comporatarea „nonmodulatorilor" [145] (vezi capitolul hipertensiunea arterială). În IC, SRA renal pare că explică:

1) efectul de potenţare a acţiunii diuretice a furosemidului şi a minidozelor de captopril (1 mg/zi), doze care nu au efecte hemodinamice [41];
2) creşterea moderată a creatininei serice la unii pacienţi trataţi cu IECA, efect atribuit scăderii tonusului arteriolei eferente cu consecinţă scăderea fracţiei filtrate şi a FG [42].

6.1.3.5. ALDOSTERONUL CIRCULANT

Aldosteronul este un hormon steroid care clasic s-a considerat că este produs exclusiv de corticosuprarenală; rolul lui este de conservare a sodiului şi a apei şi de creştere a eliminării de potasiu în cadrul mecanismelor homeostatice care controlează volumul extracelular şi vascular, bilanţul de sodiu şi de potasiu, iar unul dintre stimulii producţiei de aldosteron este şi Ang II. Acest hormon acţionează prin legare de receptori specifici în segmentele distale ale nefronului cu rezultat reabsorbţia sodiului şi a apei şi eliminare crescută de potasiu. Creşterea producţiei de aldosteron apare în condiţii de hipovolemie iar corectarea acesteia prin retenţie de apă şi de sodiu readuce producţia de aldosteron şi nivelul plasmatic al acestuia la valori normale.

În IC scăderea DC este percepută ca scădere a volumului circulant efectiv cu rezultat stimularea producţiei de aldosteron. Hiperaldosteronismul secundar din IC, cunoscut încă din anii '60, a fost observat în forme severe de IC, condiţie în care a fost considerat drept cauză a edemelor refractare şi a hipopotasemiei [43]. Disfuncţia hepatică produsă de ciroza cardiacă, frecvent asociată IC vechi şi severe contribuie şi ea la hiperaldosteronism deoarece ficatul are rol principal în metabolizarea şi inactivarea hormonului. Antagonizarea efectelor aldosteronului cu ajutorul spironolactonei a confirmat rolul aldosteronului şi a permis la majoritatea pacienţilor obţinerea greutăţii uscate şi corectarea sau prevenirea hipopotasemiei [43]. Creşterea accesului clinicienilor la dozarea aldosteronului plasmatic şi urinar a confirmat faptul că efectele amintite mai sus sunt asociate cu creşterea aldosteronului circulant.

Hiperaldosteronismul din IC severă nu este însă constant, aşa cum s-a observat şi în trialul CONSENSUS [22]. Mai mult, observaţii recente au arătat că producţia de aldosteron este diferită în retenţia hidrosalină din

Scanned with OKEN Scanner

diverse forme de cardiopatii. Anand, Ferrari şi colaboratorii au observat că la pacienţi cu IC severă din cardiomiopatii dilatative, pericardită constrictivă şi cord pulmonar cronic şi care aveau o retenţie hidrică şi de sodiu importantă, aldosteronul plasmatic, deşi bine corelat cu ARP crescută în toate aceste condiţii, a fost semnificativ mai mic la pacienţii cu cord pulmonar cronic. Această observaţie sugerează că relaţia ARP–aldosteron circulant poate fi diferită în diverse forme de edem cardiac [23, 24]. Absenţa hiperaldosteronismului evident în edemele din cordul pulmonar a fost explicată prin efectul supresiv al hipoxemiei asupra producţiei de aldosteron [23]. Şi în IC, Nicolls şi colaboratorii au observat că producţia de aldosteron şi implicit nivelul lui plasmatic este reglat de debitul de sodiu în segmentele distale ale nefronului [26]. Această observaţie este în concordanţă cu răspunsul diferit la diuretice pe care îl întâlnesc clinicienii la pacienţii cu IC cu retenţie hidrică mare. Pacienţii netrataţi şi cu aport normal de sare au un răspuns intens la diuretice saluretice, în timp ce la pacienţii supuşi la diete hiposodate şi trataţi cronic cu diuretice de ansă, eliminarea retenţiei hidrosaline este dificilă şi necesită doze mari de diuretice de ansă, asocieri de diuretice şi de regulă asocierea spironolactonei. La prima categorie nivelul aldosteronului plasmatic este de regulă normal, în timp ce la a doua categorie de pacienţi hiperaldosteronismul este de regulă prezent, mai ales dacă se asociază şi ciroza cardiacă. În general, hiperaldosteronismul este prezent în perioada de constituire a edemelor. După stabilizarea edemelor nivelul aldosteronului plasmatic poate reveni la normal [23, 24]. Pe de altă parte tratamentul diuretic cronic poate produce şi menţine un grad de hiperaldosteronism [26, 27].

6.1.3.6. ALDOSTERONUL TISULAR

Ca şi în cazul SRA, încă din anii '70 au apărut observaţii asupra unor efecte extrarenale ale aldosteronului, care ar acţiona pe receptori din alte celule epiteliale cum ar fi cele din tractul digestiv [44]. Neavând implicaţii practice, aceste observaţii nu au atras atenţia clinicienilor. Cercetări experimentale efectuate în anii '80–'90 au adus însă argumente solide în favoarea existenţei unui sistem autocrin şi paracrin miocardic şi vascular al aldosteronului şi au sugerat că efectele aldosteronului în IC şi probabil în HA sunt mult mai complexe şi mai precoce şi cu implicaţii clinice probabil importante (figura 6.5.).

Efectele aldosteronului asupra miocardului. În studii experimentale Bonvalet şi colaboratorii [45] au găsit cu ajutorul unor metode biochimice receptori mineralocorticoizi în miocite, celule endoteliale coronariene şi în fibroblaştii de iepure. Cercetări efectuate de acelaşi grup de cercetători la om au evidenţiat pe cord explantat sau pe fragmente de miocard prelevate

Scanned with OKEN Scanner

prin biopsie intraoperatorie, receptori mineralocorticoizi cu distribuție similară cu cea găsită la iepure [45]. Efectele aldosteronului asupra acestor receptori nu sunt clare, dar există argumente experimentale pentru următoarele acțiuni:

a. Factor de creştere pentru miocite şi fibroblaşti. Această acțiune a fost demonstrată de Weber şi Brilla în modele experimentale de HA la şobolani [46]. Hipertrofia asociată cu fibroza interstițială, similară cu HVS patologică observată la om, a fost realizată doar în modele în care s-a indus şi hiperaldosteronism [46, 47] (tabelul 6.5.). Tratamentul cu doze mari de spironolactonă a avut efect antihipertensiv şi a prevenit atât HVS cât şi fibroza. Dozele mici de spironolactonă nu au avut efect asupra HA şi HVS, dar au prevenit fibroza interstițială. O observație interesantă a autorilor este faptul că în modelul de HA amintit fibroza a afectat şi VD, neîncărcat hemodinamic şi nehipertrofiat, proces de asemenea prevenit de spironolactonă în doze mici. În favoarea rolului aldosteronului în producerea fibrozei miocardice pledează şi observația lui Brilla şi colaboratorii care au găsit că adăugarea de aldosteron în culturi de fibroblaşti din miocard creşte producția de colagen [48]. Studiile efectuate la om de MacFadyen şi colaboratorii aduc argumente indirecte în favoarea rolului aldosteronului în fibroza miocardică din IC şi a efectului „antifibrotic" al spironolactonei. Cercetând „turn-over"-ul colagenului miocardic prin măsurarea concentrației plasmatice a P III NP (procolagen type aminoterminal peptide) la pacienți cu IC clasa NYHA II – III tratați cu IECA, autorii au găsit că spironolactona reduce semnificativ concentrația plasmatică a acestui marker [49]. Această observație sugerează că efectul „antifibrotic" al spironolactonei este aditiv sau chiar mai important decât cel al IECA;

b. Creşterea numărului de receptori AT_1 în miocard, efect de asemenea antagonizat de spironolactonă [50]. Aldosteronul ar acționa astfel şi indirect, prin intermediul Ang II, în producerea hipertrofiei şi a fibrozei miocardice;

c. Intervenție directă asupra transportului transmembranar miocitar al K^+ şi Na^+ prin intermediul K^+-Na^+ ATP-azei [24]. Acest efect modifică excitabilitatea şi contractilitatea miocitară, iar prin depleția de K^+ din miocite poate facilita apariția aritmiilor;

d. Aldosteronul ar produce o scădere a fixării şi a inactivării NE de către miocite. Barr şi colaboratorii au observat acest efect prin infuzie de aldosteron şi ^{3}H-NE la şobolan şi prin radioimunodozarea NE în omogenatul de miocard [51]. În favoarea existenței acestui efect şi la om pledează cercetările aceloraşi autori cu ajutorul scintigrafiei miocardice cu ^{123}I-metaiodobenzilguanidina utilizată pentru cercetarea fixării

Scanned with OKEN Scanner

miocardice a NE la pacienți cu IC tratați cu spironolactonă sau placebo asociată cu IECA și diuretice. După 8 săptămâni de tratament spironolactona a produs o creștere semnificativă a fixării NE în miocard [51]. Efectul de reducere a fixării și inactivării NE în miocard al aldosteronului constituie un argument în favoarea acțiunii aritmogene și vasoconstrictoare coronariene a aldosteronului. Rezultatele trialului RALES, prezentate mai jos, pot fi explicate în parte prin antagonizarea de către spironolactonă și a acestor efecte [52]. Un efect de reducere a fixării NE în miocard a fost găsit experimental și sub infuzie de Ang II. Faptul că în studiul menționat mai sus spironolactona a avut un efect de creștere a fixării NE la pacienți tratați cu IECA arată că IECA antagonizează incomplet acest efect, iar spironolactona are o acțiune antagonistă aditivă dacă nu exclusivă.

Nu este clar dacă efectele menționate mai sus sunt produse de aldosteronul circulant sau de cel produs local. Swynghedauw și colaboratorii au găsit că miocardul de șobolan conține echipamentele enzimatice necesare producerii aldosteronului, inclusiv aldosteronsintetaza, deși la o concentrație de 100 de ori mai mică decât în corticosuprarenală [50]. Acești autori au demonstrat că inima izolată de șobolan produce aldosteron, iar activitatea aldosteronsintetazei este crescută de aceiași factori care stimulează producția de aldosteron din suprarenală (tabelul 6.12). Concluziile autorilor citați sunt că în miocard există un sistem autocrin activ al aldosteronului. Datele studiului clinic ale lui MacFadyen și colaboratorii [49], citat mai sus, constituie un argument indirect în favoarea acestei ipoteze. Majoritatea pacienților la care s-a observat scăderea P III NP sub spironolactonă au fost în clasa NYHA II (12 din 21) și stabili clinic, condiții în care nivelul aldosteronului circulant (nedozat) este de regulă în limite normale.

6.1.3.6.1. Efectele vasculare ale aldosteronului.

La pacienții cu IC și retenție hidrosalină aldosteronul are un efect vascular cunoscut mai demult și anume creșterea conținutului de apă și de sodiu în peretele arteriolelor. Acest efect amplifică acțiunea vasoconstrictivă a NE și a Ang II și contribuie la creșterea rezistențelor arteriolare în IC. Cercetări experimentale și clinice recente au arătat însă că efectele vasculare ale aldosteronului sunt mult mai complexe. O acțiune vasculară directă este sugerată de observațiile lui Schohn și colaboratorii [53] care au găsit că la pacienți oligurici supuși dializei cronice și în condiții hidroelectrolitice stabile, spironolactona reduce efectul presor al Ang II și NE atât în sistemul arterial, cât și în cel de presiune joasă, cum sunt atriul drept și capilarele pulmonare. Ca și în cazul efectelor „antifibrotice" ale spironolactonei

Scanned with OKEN Scanner

demonstrate experimental de Weber şi Brilla şi amintite mai sus, reducerea efectului presor al Ang II şi NE observate de Schohn şi colaboratorii au apărut tot la doze mici, de 25 mg/zi de spironolactonă. Amplitudinea acestui efect supresiv a fost puţin crescută de mărirea dozelor. Concluzia acestui studiu este că aldosteronul acţionează direct pe vase potenţând efectul vasoconstrictiv al NE şi al Ang II. Un studiu efectuat de Taddei şi colaboratorii la pacienţi cu hiperaldosteronism primar a arătat că reacţia vasculară dependentă de endotelină şi indusă de acetilcolină este diminuată, iar răspunsul la acetilcolină se normalizează după ablaţia tumorii suprarenale concomitent cu revenirea la normal a valorilor aldosteronului plasmatic [54]. Această observaţie sugerează că hiperaldosteronismul produce disfuncţie endotelială, anomalie evidenţiată şi la pacienţii cu IC [60]. Într-un studiu publicat recent, Farquharson şi Struthers confirmă efectul de ameliorare a disfuncţiei endoteliale al spironolactonei în IC prin cercetarea funcţiei endoteliale a arterei brahiale prin utilizarea metodelor de ocluzie venoasă, pletismografie şi administrarea de acetilcolină, L-NMMA (N-monometil-L-arginină, un inhibitor competitiv al NO sintetazei), Ang I şi Ang II la pacienţi trataţi convenţional cu IECA şi diuretice şi randomizaţi la spironolactonă 50 mg/zi sau placebo. Spironolactona a crescut semnificativ fluxul sanguin sub acetilcolină şi răspunsul la L-NMMA, în timp ce efectul vasoconstrictiv la Ang I a fost redus, iar cel la Ang II nu s-a modificat[55]. Concluziile acestui studiu au fost că spironolactona ameliorează disfuncţia endotelială şi în IC şi amplifică efectul vascular al IECA.

Într-un studiu clinic finalizat recent, Duprez şi colaboratorii, utilizând o metodă neinvazivă de măsurare a complianţei arterelor mari, au găsit la pacienţi cu IC trataţi cu IECA o scădere de complianţă corelată semnificativ cu nivelul crescut al aldosteronului plasmatic. Pentru Ang II circulantă nu s-a găsit o astfel de corelaţie [56].

Un alt efect vascular al aldosteronului ar putea fi scăderea sensibilităţii reflexelor baroreceptoare. Wang şi colaboratorii au găsit la câine cu IC produsă experimental că infuzia de aldosteron în sinusul carotidian deprimă reflexele baroreceptoare, iar pretratamentul cu spironolactonă previne acest efect [57]. Reducerea barorecepţiei în IC la om este cunoscută [58], iar observaţiile lui Wang şi colaboratorii sugerează un rol contributiv al aldosteronului la această tulburare.

Ca şi în cazul efectelor miocardice ale aldosteronului, nu este clar dacă efectele vasculare sunt produse numai de aldosteronul circulant sau există un sistem autocrin si paracrin vascular al aldosteronului. În favoarea ultimei posibilităţi pledează observaţiile lui Hatakeyama şi colaboratorii [59] care au evidenţiat receptori ai aldosteronului şi enzimele necesare

Scanned with OKEN Scanner

sintezei acestuia în endoteliul şi fibrele musculare netede din artera pulmonară la om. Un efect vascular produs de aldosteronul sintetizat local nu a fost încă demonstrat la om. Datele experimentale şi clinice disponibile în prezent indică un rol important al hormonului în producerea vasoconstricţiei din IC, iar antagonizarea acestui efect ar putea avea efecte benefice.

6.1.3.7. REMODELAREA CARDIACĂ ÎN INSUFICIENŢA CARDIACĂ ŞI ÎN HIPERTENSIUNEA ARTERIALĂ

HVS concentrică sau excentrică produsă de încărcări presionale sau de volum este cunoscută demult şi a fost considerată clasic un răspuns compensator şi adaptativ la creşterea sarcinii hemodinamice. Dilatarea VS produsă prin pierderea de masă miocardică din IMA sau prin necroze insulare din miocardite şi cardiomiopatii dilatative, ca şi cea care apare în evoluţia HVS, au fost de asemenea considerate o reacţie compensatorie, în care DC este menţinut printr-o creştere a presiunii/volumului diastolic, conform mecanismului Frank-Starling.

Cercetări clinice şi experimentale din ultimele două decenii au arătat însă că hipertrofia şi dilatarea ventriculilor care preced sau însoţesc IC sunt fenomene mult mai complexe.

Procesul prin care inima supusă unei agresiuni se hipertrofiază sau/şi se dilată a început să fie denumit „remodelare". Iniţial, acest termen a fost utilizat pentru definirea modificărilor de volum şi formă ale VS, modificări etichetate drept remodelare geometrică [1, 61–63]. Ulterior, constatându-se că „remodelarea geometrică" se asociază cu alterări microscopice ale structurii miocardului, s-a introdus şi termenul de „remodelare structurală" [35, 64, 65].

Pe baza datelor disponibile în prezent, conceptul asupra remodelării, care are implicaţii practice importante, poate fi rezumat astfel:

a. Dilatarea şi hipertrofia ventriculară, care sunt de fapt componente ale remodelării, deşi au pentru un timp variabil un rol adaptativ, pe termen lung sunt maladaptative, progresive şi determină apariţia şi progresia spre deces a IC;
b. În producerea şi progresia remodelării, pe lângă tulburări hemodinamice intervin factori neurohormonali circulanţi şi locali care pot fi antagonizaţi prin măsuri farmacoterapeutice cu rezultat prevenirea, oprirea sau chiar reversia remodelării cu consecinţe asupra apariţiei şi progresiei IC;
c. Apariţia şi progresia remodelării în cardiopatii poate fi recunoscută şi urmărită în clinică prin metode neinvazive.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste cunoştinţe asupra remodelării au constituit un progres foarte rapid în ultimul deceniu, motiv pentru care ele au fost înţelese şi aplicate doar de un număr limitat de specialişti. Pe de altă parte nu a existat nici un concept unitar asupra definiţiei, recunoaşterii şi a intervenţiilor asupra remodelării. Apariţia recentă a numeroase dovezi care arată că intervenţiile precoce asupra remodelării pot reduce morbiditatea şi mortalitatea legată de IC, a impus măsuri practice pentru definirea unui concept unitar care să fie însuşit şi aplicat cât mai rapid de către practicieni. În acest scop s-a constituit un for internaţional de experţi (The International Forum on Cardiac Remodeling) care prin consens a publicat un material recent asupra aspectelor teoretice şi practice ale remodelării cardiace [12]. În acest material, deşi se recunoaşte că unele aspecte legate de remodelare sunt încă neclare şi în curs de investigare, sunt dezvoltate 5 principii de interes practic:

1. concepte asupra remodelării, cu referire la definiţia, cauzele şi mecanismele acestui proces;
2. remodelarea cardiacă şi progresivitatea IC;
3. valoarea clinică a mijloacelor de diagnostic ale remodelării cardiace;
4. efectele unor intervenţii terapeutice asupra remodelării;
5. importanţa informării medicilor practicieni şi a pacienţilor asupra remodelării („educational implications");

Conform forumului de experţi, remodelarea cardiacă este o expresie a genomului la nivel molecular, celular şi interstiţial miocardic care se manifestă după o agresiune asupra inimii şi care are drept consecinţe modificări în mărimea, forma şi funcţia cardiacă [12].

6.1.3.7.1. Caracteristicile remodelării cardiace

O „remodelare fiziologică" constând în creşterea masei miocardice şi a volumului cavităţilor are loc în cursul creşterii spre vârsta adultă, la sportivi şi la obezi [61]. În acest tip de remodelare funcţia şi structura inimii se menţin normale, iar la sportivi procesul este complet reversibil şi fără risc de evenimente cardiace ulterioare odată ce activitatea fizică intensă încetează. Ca urmare acest tip de remodelare, deşi recunoscut, nu este analizat în materialul forumului de experţi.

Structura normală a miocardului este constituită din 70–75% miocite şi dintr-o masă nonmiocitară care reprezintă 25–30% şi care conţine celule endoteliale şi fibre musculare netede din vasele coronariene, fibroblaşti şi colagen [47]. Matricea de colagen, care reprezintă 2–3% din masa miocardică se găseşte în valvule, cordaje şi într-o reţea continuă peri-

Scanned with OKEN Scanner

vascular şi între fibrele miocardice. Reţeaua de colagen interstiţial are rol important în menţinerea alinierii normale a miocitelor şi le oferă suport mecanic în cursul forţelor generate de ciclul cardiac. În plus, colagenul determină rigiditatea („stiffness") miocardului şi complianţa diastolică [66].

Ventriculul stâng, cavitatea afectată cel mai des, prezintă următoarele modificări produse de remodelare:

– Macroscopic, cavitatea este dilatată, iar forma ei din eliptică tinde să devină sferică. În funcţie de etiologie pereţii VS sunt hipertrofiaţi uniform, condiţie întâlnită în încărcări presionale (HA, stenoza aortică) sau de volum (insuficienţe valvulare stângi), sau neuniform, cum se întâmplă în cardiomiopatii dilatative ischemice sau neischemice, unde există zone de perete normal, subţiat sau dilatat anevrismal în aria unei cicatrici de IM şi zone cu perete hipertrofiat [31, 64];

– Microscopic, apar modificările caracteristice remodelării structurale. În HVS din încărcările presionale, hipertrofia miocitară se asociază cu un exces de colagen interstiţial, raportul dintre masa miocitară şi nonmiocitară fiind scăzut. În cardiopatia ischemică, pe lângă cicatricile de IM, la distanţă de acestea există un exces de colagen interstiţial între miocite normale, hipertrofiate iar altele atrofiate, ca şi cum ar fi „sufocate" de proliferarea colagenului [31]. Relaţia dintre miocite şi colagen apare anormală, fapt care pare să altereze şi funcţia miocitelor normale şi hipertrofiate, favorizând fenomenul de „alunecare" (slippage) miocitar [66]. În CMD neischemice reducerea numărului de miocite produs prin necroze insulare se asociază cu o proliferare a colagenului interstiţial asemănătoare cu cea din CMD ischemică şi cu consecinţe asemănătoare asupra miocitelor.

6.1.3.7.2. Consecinţele funcţionale ale remodelării

Sunt reprezentate de disfuncţia ventriculară, de regulă stângă. Disfuncţia VS se clasifică în sistolică şi diastolică.

Disfuncţia sistolică se caracterizează prin alterarea golirii VS în cursul sistolei. Evidenţierea ei se poate face prin mai mulţi indici din care cel mai utilizat în clinică este măsurarea FE ecocardiografic sau prin ventriculografie izotopică. Valoarea normală a FEVS este peste 50%, iar valori sub 40% indică existenţa disfuncţiei sistolice [5, 8]. În IMA şi în alte suferinţe miocardice acute, disfuncţia sistolică poate fi prezentă în absenţa dilatării VS. În majoritatea cardiopatiilor cronice disfuncţia sistolică se asociază cu VS dilatat, respectiv remodelat. În evoluţia unei cardiopatii, disfuncţii sistolice chiar severe cu FEVS sub 30% şi cu cavităţi dilatate pot

Scanned with OKEN Scanner

fi asimptomatice, iar DC menținut normal pentru perioade variabile de timp (figura 6.1.). Evoluția se face însă spre IC, iar FEVS este un indice găsit bine corelat cu morbiditatea și cu mortalitatea cardiovasculară [12] (figura 6.1).

Disfuncția diastolică este un termen care se referă la alterarea umplerii VS în cursul diastolei, umplere care se face cu presiuni peste cele normale. Această tulburare este produsă de o relaxare întârziată a miocardului, condiție întâlnită în HVS de cauze variate sau de alterarea proprietăților vâscoelastice ale miocardului, ceea ce îi crește rigiditatea („stiffness") și îi scade complianța, condiții întâlnite în cicatrici mari de IM, în fibroze miocardice de cauze variate și în miocardul ischemic [7, 11, 67]. Creșterea presiunilor de umplere poate produce congestie retrogradă și chiar edem pulmonar acut. Disfuncția diastolică însoțește de regulă și pe cea sistolică, dar ea este frecvent izolată în unele forme de cardiopatie ischemică, hipertensivă, cardiomiopatie hipertrofică și la cordul vârstnicului. În aceste condiții pot apărea simptomele și semnele IC cu FEVS normală, motiv pentru care a apărut termenul de IC „diastolică" sau cel de IC cu funcție sistolică păstrată. Această formă de IC este frecventă la vârstnici la care reprezintă aproximativ 40% din totalul IC [5, 7], iar recunoașterea ei este importantă deoarece unele măsuri terapeutice sunt diferite de cele utilizate în IC „sistolică" [67].

În practică, termenul de IC se referă la IC sistolică, în timp ce disfuncția diastolică izolată asimptomatică sau însoțită de manifestări de IC este denumită „disfuncție diastolică" și respectiv IC diastolică, sau de preferat IC cu funcție sistolică păstrată.

6.1.3.7.3. Mecanismele remodelării cardiace

În remodelarea VS intervin factori hemodinamici și neurohormonali. Factorul hemodinamic care induce și poate întreține remodelarea este creșterea wall-stress-ului parietal, iar intervenția lui este diferită în diverse forme de cardiopatii.

În infarctul miocardic acut necroza miocardică, dacă este suficient de mare, are două efecte: pierdere de miocite cu alterarea raportului masă contractilă/volum VS și creșterea razei cavității VS prin expansiunea zonei infarctizate. Ambele efecte produc o creștere a tensiunii pe peretele VS indemn cu rezultat dilatarea și ulterior hipertrofia acestei părți a VS [61–63]. Acest proces care se dezvoltă în săptămâni și luni de la debutul IM duce pe plan anatomic la un VS dilatat și cu geometrie alterată (figura 6.3.), iar pe plan funcțional la disfuncție sistolică VS inițial asimptomatică și la IC.

Scanned with OKEN Scanner

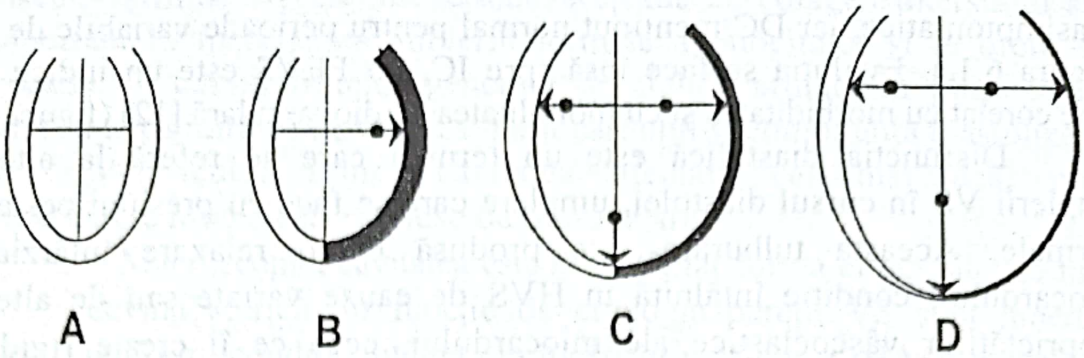


Figura 6.3. Remodelarea geometrică după IMA. A: Pereți și cavitate VS normală. B: Expansiunea zonei infarctate (în negru) și creșterea razei cavității. C: Continuarea expansiunii cicatricei de necroză, hipertrofia miocardului indemn și dilatarea VS. D. VS dilatat, cu zona cicatricială subțiată și expansionată și cu un grad de hipertrofie a miocardului indemn. [modificat după 62].

În CMD pierderea de miocite este focală și difuză, dar consecințele asupra miocitelor indemne și asupra cavității VS sunt asemănătoare cu cele din IMA: creșterea wall stress-ului, dilatarea VS, hipertrofia miocitelor restante și apariția disfuncției sistolice a VS cu evoluție spre IC.

În cardiopatiile care produc încărcare presională (stenoza aortică, HA) rezistența la ejecție crește uniform wall stress-ul sistolic cu rezultat HVS concentrică, care determină normalizarea wall stress-ului pentru perioade variabile de timp.

Cercetări experimentale recente confirmate și prin observații clinice au arătat că procesul de remodelare descris mai sus are două componente, fibroza miocardică și hipertrofia patologică, procese în care SRAA are un rol important.

Fibroza miocardică este de două tipuri: reparatorie și reactivă. Fibroza reparatorie este ca și în alte țesuturi rezultatul final al procesului complex de vindecare a unei răni [31, 32]. În miocard acest tip de fibroză este întâlnit în IMA, când înlocuiește o masă de miocard necrozată, dar este asemănător și în necrozele miocitare insulare din CMD și miocardite. Cercetările asupra remodelării structurale din IM evoluat spre dilatare și IC au arătat unele aspecte neașteptate, sintetizate de Beltrami și colaboratorii [64] astfel: în VS remodelat după IMA doar 30% din fibroza interstițială reprezintă cicatricea de IM, restul de 70% fiind difuză și la distanță de zona necrozată. Mai mult, un exces de colagen interstițial a fost găsit și în VD. Rezultă că procesul reparator al unei zone necrozate poate declanșa o proliferare de colagen și fibroză interstițială la distanță, în miocardul perfuzat normal. Explicația acestui fenomen nu este clară, dar el apare ca fiind produs de difuziunea la distanță a unor factori de creștere a fibroblaștilor și a colagenului. Pentru rolul SRA miocardic în acest proces există argumente experimentale și clinice.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetări care au utilizat autoradiografia şi metode imunochimice pentru identificarea ECA în IMA experimental au găsit o creştere a legării ECA asociată cu o proliferare a fibroblastelor, iniţial în zona necrozată, iar ulterior la distanţă, în miocardul indemn. Fenomenul a putut fi prevenit de administrarea precoce de captopril, cilazapril şi de losartan [32, 33]. Aceste observaţii arată că pe lângă mediatorii cunoscuţi ai reparării tisulare, SRA miocardic are un rol important în remodelarea structurală care determină şi remodelarea geometrică după IMA. Efectele favorabile ale terapiei precoce cu IECA în IMA, documentate în numeroase trialuri clinice (tabelul 6.9.) constituie un argument important în favoarea intervenţiei SRA în remodelarea VS şi a dus la utilizarea sistematică a acestei clase de medicamente [7, 8, 11].

Fibroza reactivă este un termen utilizat de Weber, Brilla şi colaboratorii [46, 65] pentru a descrie fibroza interstiţială difuză asociată HVS din unele modele de HA experimentală, dar el este probabil aplicabil şi la HVS observată la om [68]. Modelele experimentale de HA menţionate sunt rezumate în tabelul 6.5.

Tabelul 6.5. Răspunsul hipertensiv al HVS, al fibrozei interstiţiale miocardice şi creşterii plasmatice a AII şi aldosteronului în modele experimentale de HA la şobolan [modificat după 46]

Modelul	HA	HVS	Fibroză	A II	Aldo
HRV	+	+	+	Crescut	Crescut
+captopril	-	-	-	Normal	Normal
+spironolactonă	+	+	-	Crescut	Crescut
1 RINICHI					
+aport crescut de Na^+	-	+	-	Normal	Normal
+aldosteron (infuzie)	+	+	+	Scăzut	Crescut
+aldosteron+spironolactonă (doze mici)	+	+	-	Scăzut	Crescut
+aldosteron+spironolactonă (doze mari)	-	-	-	Scăzut	Crescut
STENOZĂ AORTICĂ („banding" sub arterele renale)	+	+	-	Normal	Normal

Datele din tabel arată că în absenţa tratamentului, HA a apărut în toate modelele cu excepţia modelului 2 (exces de volum) şi a fost însoţită de HVS. Asocierea fibrozei interstiţiale s-a observat doar la modelele în care s-a produs o creştere a nivelului plasmatic al Ang II şi/sau a aldosteronului. Pretratamentul cu captopril a prevenit producerea HA, a HVS şi a fibrozei. Spironolactona în doze mici a prevenit doar fibroza, fiind fără efect asupra HA şi a HVS. În modelul de HA şi hiperaldosteronism dozele mari de

Scanned with OKEN Scanner

spironolactonă au prevenit HA, HVS şi fibroza, iar dozele mici doar fibroza. Tot în aceste studii s-a observat că în modelele de HA asociate cu creşterea activităţii SRAA, fibroza a afectat şi VD, care nu a fost încărcat hemodinamic şi nu a prezentat hipertrofie. În alte studii experimentale s-a demonstrat că tratamentul cu IECA produce nu numai regresia HVS, fapt demonstrat şi la om [34], ci şi a fibrozei interstiţiale.

Datele din tabel arată că în absenţa tratamentului, HA a apărut în toate modelele cu excepţia modelului 2 (exces de volum) şi a fost însoţită de HVS. Asocierea fibrozei interstiţiale s-a observat doar la modelele în care s-a produs o creştere a nivelului plasmatic al Ang II şi/sau a aldosteronului. Pretratamentul cu captopril a prevenit producerea HA, a HVS şi a fibrozei. Spironolactona în doze mici a prevenit doar fibroza, fiind fără efect asupra HA şi a HVS. În modelul de HA şi hiperaldosteronism dozele mari de spironolactonă au prevenit HA, HVS şi fibroza, iar dozele mici doar fibroza. Tot în aceste studii s-a observat că în modelele de HA asociate cu creşterea activităţii SRAA, fibroza a afectat şi VD, care nu a fost încărcat hemodinamic şi nu a prezentat hipertrofie. În alte studii experimentale s-a demonstrat că tratamentul cu IECA produce nu numai regresia HVS, fapt demonstrat şi la om [34], ci şi a fibrozei interstiţiale.

Aceste observaţii constituie argumente în favoarea intervenţiei SRAA în fibroza interstiţială care însoţeşte HVS din unele HA şi a efectelor „antifibrotice" ale IECA şi spironolactonei administrată chiar în doze mici.

HVS patologică asociată cu fibroza interstiţială difuză a fost demonstrată de Krayenbuehl şi Hess în stenoza aortică la om prin biopsii miocardice intraoperatorii [68]. După corecţia valvulopatiei, regresia HVS s-a asociat şi cu reducerea fibrozei. Intervenţia SRA miocardic în acest proces este sugerată de studii care au arătat că disfuncţia diastolică din stenoza aortică la om este ameliorată de infuzia intracoronariană de enalapril în absenţa unor efecte sistemice. Acest rezultat a fost explicat fie printr-o acţiune directă a IECA asupra relaxării miocitelor, fie printr-o vasodilataţie coronariană şi ameliorarea perfuziei miocardice [39], ambele efecte fiind rezultatul inhibiţiei ECA miocardice.

HVS din hipertensiunea arterială la om fiind produsă de creşterea postsarcinii, ar trebui să fie, cel puţin iniţial, de tip concentric. În realitate, pe lângă HVS concentrică se întâlneşte frecvent o formă excentrică şi mai rar o forma asimetrică, cu hipertrofie predominant septală [69–71]. Forma excentrică este observată la obezi şi în condiţii de aport crescut de sare, ambele condiţii fiind probabil asociate şi cu o creştere a volumului circulant [69]. Stimulul pentru producerea HVS este creşterea wall stress-ului sistolic care induce o serie de factori de creştere miocitari cu rezultat creşterea grosimii miocitelor în raport cu lungimea lor prin adiţia în paralel de

Scanned with OKEN Scanner

miofibrile. Dintre factorii de creştere un rol important îl au Ang II şi probabil aldosteronul care pe lângă hipertrofia miocitară stimulează proliferarea fibroblaştilor şi excesul de colagen miocardic, aşa cum s-a demonstrat în studiile experimentale ale lui Weber şi Brilla amintite într-un paragraf anterior [46]. La om există următoarele argumente pentru intervenţia SRAA:

– caracterul patologic al HVS la majoritatea pacienţilor cu HA, care este dat de raportul scăzut dintre masa miocitară şi cea nonmiocitară reprezentată de colagen şi care este asemănătoare cu modelele experimentale citate;
– existenţa unei corelaţii între masa VS şi ARP [citat de 69];
– efectul superior de reducere a HVS a IECA şi ARA în comparaţie cu alte clase de medicamente în condiţiile în care efectele asupra TA sunt similare [34].

Pe lângă efectele directe ale SRAA miocardic în HVS, există argumente experimentale că Ang II şi aldosteronul intervin şi indirect acţionând asupra altor factori neurohormonali. Astfel Ang II produce o creştere locală a eliberării de NE cu rezultat creşterea inotropismului, a rezistenţelor arteriolare coronariene şi a riscului de aritmii [4, 34]. SRA intervine şi prin creşterea endotelinelor cu rezultat disfuncţia endotelială şi alterarea vasodilataţiei coronariene produse de NO (figura 6.2, tabelul 6.7.). Aldosteronul produce o creştere a receptorilor AT_1 şi prin acest efect amplifică acţiunea SRA [50], iar prin acţiunea asupra schimbului ionic şi prin reducerea potasiului din miocit poate facilita apariţia aritmiilor ventriculare. Acest efect pare favorizat de terapia diuretică [72, 178]. Intervenţiile SRAA menţionate mai sus şi bazate pe cercetări experimentale explică observaţiile clinice asupra HVS din HA. HVS, deşi poate menţine pe perioade de timp uneori lungi o funcţie cardiacă normală, datele epidemiologice de la Framingham au arătat că ea constituie un factor de risc independent de mortalitate şi morbiditate în HA [73, 74]. HVS produce frecvent disfuncţie diastolică la care în evoluţie se asociază adesea disfuncţie sistolică şi IC, ischemie miocardică chiar în absenţa unor leziuni coronariene semnificative şi moarte subită prin aritmii. Factorii care favorizează aceste complicaţii sunt:

a. Disfuncţia diastolică ce este produsă de întârzierea relaxării miocitelor hipertrofiate şi de scăderea complianţei VS determinată de creşterea conţinutului de colagen miocardic. Această tulburare explică apariţia, mai ales la vârstnici, a IC cu funcţie sistolică păstrată şi chiar a edemului pulmonar acut;
b. Apariţia în timp a disfuncţiei sistolice şi a IC, fapt explicat prin caracterul progresiv al proliferării colagenului şi a fibrozei interstiţiale

Scanned with OKEN Scanner

asociată cu alterarea funcției miocitare și a reducerii numărului lor prin deficitul cronic de O_2 produs de creșterea raportului masă miocitară/capilare coronare și de scăderea rezervei dilatatoare coronariene. Importanța acestui factor este demonstrată de studiile epidemiologice care arată că HA este pe primul [73] sau al doilea [74] loc în ordinea factorilor etiologici ai IC. Dacă se ține cont că TA poate fi normalizată sub tratament, iar HVS este reversibilă sub IECA sau ARA, rezultă că intervențiile precoce asupra SRAA în HA au valoare maximă în profilaxia și terapia IC;

c. Ischemia miocardică manifestată ca angină, sindroame coronariene acute sau silențioase este frecventă în HA. Rolul HA ca factor de risc în ateroscleroza coronariană și complicațiile ei este în prezent bine cunoscut. Angina și ischemia silențioasă, asociate cu artere coronare fără leziuni semnificative, este de asemenea frecventă și este explicată în prezent prin scăderea rezervei coronariene produsă de HVS, factor de limitare a ofertei de O_2 la efort și de disfuncția endotelială, în care relația Ang II – endoteline are rol important prin reducerea răspunsului vasodilatator mediat de NO [60] (tabelul 6.7.);

d. riscul crescut de moarte subită la hipertensivii cu HVS este de asemenea documentat de studii epidemiologice și el este pus pe seama unor condiții favorizante ale aritmiilor ventriculare maligne. Aceste condiții sunt:
   – fibroza interstițială care poate constitui un substrat aritmogen prin crearea unor condiții pentru mecanismele de reintrare;
   – excesul local de NE facilitat de Ang II și de aldosteronul miocardic [51] și de asemenea de depleția miocitară de potasiu și de magneziu, favorizată de aldosteron, mai ales la pacienții tratați cu diuretice [75–77];
   – episoade de ischemie miocardică în care disfuncția endotelială facilitată și de activitatea crescută a SRA are probabil rol important.

HVS din încărcările de volum, studiată la animal prin fistulă aorto-cavă și ruptură de valve mitrale, iar la om în insuficiența mitrală și aortică, este de tip excentric și se traduce prin dilatare și hipertrofie VS [36]. Consecințele asupra funcției și structurii VS sunt diferite de cele din încărcările de presiune și din pierderea de masă miocitară. Funcțional crește wall stress-ul diastolic. Creșterea miocitară se face atât în grosime cât și în lungime, iar hipertrofia și dilatarea VS nu se asociază cu un exces de colagen interstițial. Experimental s-a demonstrat că wall stress-ul diastolic crescut produce și în acest caz o creștere a activității SRA miocardic, iar în evoluția spre IC terminală numărul de miocite se reduce prin necroză. Nu există în prezent o explicație asupra diferenței de acțiune a SRA asupra

Scanned with OKEN Scanner

proliferării colagenului în cele două tipuri de HVS. SRA pare să aibă inițial un rol de factor de creştere miocitar cu rezultat adaptarea la încărcarea de volum, iar în evoluție ar putea contribui la reducerea numărului de miocite şi la evoluția spre IC şi deces [36].

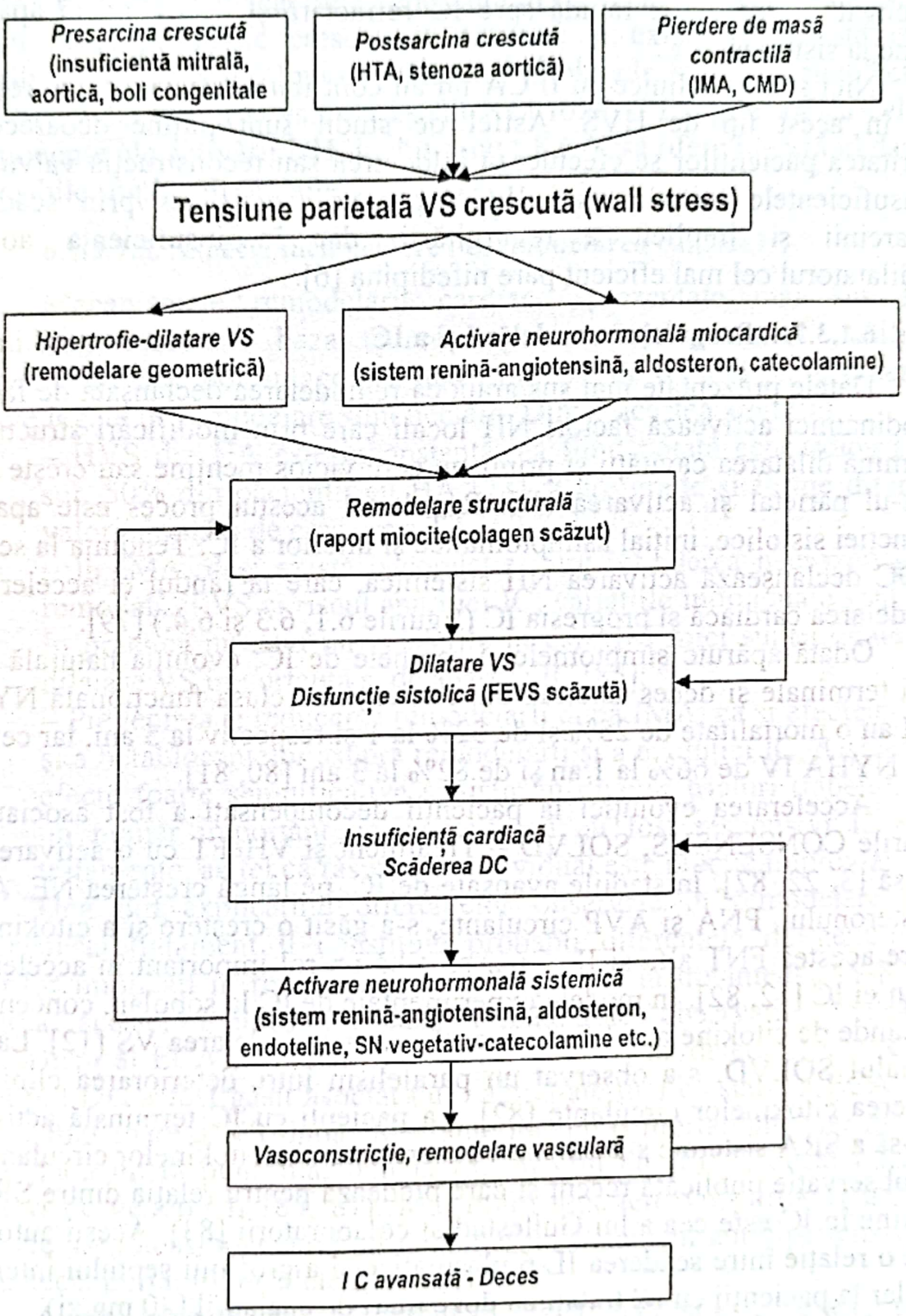


Figura 6.4. Remodelarea geometrică şi structurală a VS în evoluția unor cardiopatii spre IC şi rolul activării neurohormonale sistemice şi miocardice [reproducere cu permisiune după 79].

Scanned with OKEN Scanner

Rezultă că rolul SRA în HVS excentrică prin încărcările de volum este neclar, iar ipoteza prezentată mai sus este în concordanță cu evoluția clinică a insuficiențelor mitrale și aortice cu regurgitare mare: HVS excentrică, ce conferă o funcție și o stabilitate clinică menținută timp îndelungat și o evoluție rapidă spre IC refractară și deces, odată apărută disfuncția sistolică.

Nici studiile clinice cu IECA nu au contribuit la cunoașterea rolului SRA în acest tip de HVS. Astfel de studii sunt puține deoarece la majoritatea pacienților se efectuează înlocuirea sau reconstrucția valvulară. În insuficiențele mitrale mari IECA par utili mai ales prin scăderea postsarcinii și implicit a regurgitării, dar în insuficiența aortică vasodilatatorul cel mai eficient pare nifedipina [6].

6.1.3.7.4. Progresia remodelării și a IC

Datele prezentate mai sus arată că remodelarea declanșată de factori hemodinamici activează factori NH locali care prin modificări structurale determină dilatarea cavității și printr-un cerc vicios menține sau crește wall stress-ul parietal și activarea NH. Rezultatul acestui proces este apariția disfuncției sistolice, inițial asimptomatice și ulterior a IC. Tendința la scăderea DC declanșează activarea NH sistemică, care la rândul ei accelerează remodelarea cardiacă și progresia IC (figurile 6.1, 6.3 și 6.4.) [79].

Odată apărute simptomele și semnele de IC, evoluția naturală spre stadii terminale și deces este rapidă. Pacienții cu clasa funcțională NYHA II–III au o mortalitate de 25% și de 52% la 1 și respectiv la 5 ani, iar cei din clasa NYHA IV de 66% la 1 an și de 82% la 3 ani [80, 81].

Accelerarea evoluției la pacienții decompensați a fost asociată în trialurile CONSENSUS, SOLVD – Treatment și VHeFT cu o activare NH intensă [3, 22, 82]. În stadiile avansate de IC, pe lângă creșterea NE, ARP, aldosteronului, PNA și AVP circulante, s-a găsit o creștere și a citokinelor. Dintre acestea FNT alfa și IL-6 par să aibă un rol important în accelerarea evoluției IC [12, 82]. În modele experimentale de IC la șobolan, concentrații crescânde de citokine amplifică și accelerează remodelarea VS [12]. La om, în trialul SOLVD, s-a observat un paralelism între deteriorarea clinică și creșterea citokinelor circulante [82]. La pacienți cu IC terminală activarea intensă a SRA sistemic s-a asociat cu o creștere și a citokinelor circulante. O altă observație publicată recent și care pledează pentru relația dintre SRA și citokine în IC este cea a lui Gullestad și colaboratorii [83]. Acești autori au găsit o relație între scăderea IL-6 plasmatice și a grosimii septului interventricular la pacienții cu IC tratați cu doze mari de enalapril [40 mg/zi).

Modul de acțiune al citokinelor în IC nu este clar. Există însă date experimentale și clinice care arată că citokinele sunt implicate în apoptoză și în caşexia cardiacă.

Scanned with OKEN Scanner

Apoptoza a fost găsită experimental în suferința ischemică, în IMA și în tulburările legate de reperfuzia miocardică [12]. O ipoteză de lucru cercetată intens în prezent este și intervenția apoptozei în remodelarea cardiacă, mai ales că printre efectele receptorilor AT este și apoptoza [37, 38, 84]. Caşexia cardiacă, bine cunoscută în IC vechi și severe, este asociată cu un nivel plasmatic crescut de citokine și există argumente că ele contribuie la aceasta tulburare. Oricum, citokinele sunt cercetate tot mai frecvent în IC la om și este de așteptat ca rolul și relațiile lor cu celelalte componente ale activării NH, inclusiv cu SRAA, să ofere în curând date noi cu posibile implicații practice.

6.1.3.7.5. Aspecte încă neclare în remodelarea cardiacă

Mecanismele remodelării cardiace, prezentate mai sus foarte simplificat, constituie baza teoretică pentru înțelegerea și justificarea intervențiilor care pot antagoniza acest proces. Pe de altă parte o serie de aspecte legate de remodelare sunt neclare. Dintre acestea amintim:

– HVS din HA este inconstantă, ea fiind notată ecocardiografic la sub 50% din pacienții cu HA [78] și are grade și forme diferite la valori similare de creștere a TA [69-71];

– În IMA, deși există o corelație între întinderea necrozei, gradul remodelării VS și riscul apariției IC, variațiile individuale sunt mari. În practică nu sunt rare cazurile în care IM mici sunt urmate de o dilatare VS importantă și de apariția IC [85];

– Prevenirea și reducerea remodelării după IMA, ca și efectele IECA și a betablocantelor asupra remodelării și a evoluției IC, deși au avut efecte foarte semnificative statistic în diverse trialuri (tabelul 6.9.), un număr important de pacienți nu au fost responsivi la aceste tratamente, astfel că răspunsul individual este practic imprevizibil.

Una din explicațiile diferențelor observate în remodelare și în răspunsul la tratament îl constituie probabil diferențele de genotip ale factorilor implicați în remodelare și în răspunsul la tratament [85–87]. În favoarea acestei ipoteze pledează următoarele observații. Există un polimorfism al ECA după caracterul I și D (insertion/deletion) al acesteia. Genotipul DD a fost găsit asociat cu o activitate mai crescută a ECA, cu o dilatare mai mare a VS după IMA anterior, cu o mortalitate mai mare în CMD și cu un răspuns mai bun la tratamentul cu IECA, decât pacienții purtători de genotip II [85, 87]. Mai mult, hipertensivii purtători de alele 235T ale angiotensinogenului au necesitat un tratament antihipertensiv mai intens decât purtătorii de alele 235M [85].

Aceste aspecte sunt în prezent intens studiate și este de așteptat ca identificarea unor caracteristici genetice la pacienți cu risc de IC să permită aprecieri prognostice și o selecție mai bună a intervențiilor farmaco-terapeutice.

Scanned with OKEN Scanner

6.1.3.7.6. Evaluarea clinică a mijloacelor de diagnostic şi de urmărire ale remodelării cardiace

Ecocardiografia este în prezent metoda cea mai utilizată pentru măsurarea diametrelor ventriculare şi a FE. Vetriculografia izotopică, deşi mai exactă, este puţin folosită din cauza accesibilităţii mai reduse şi a costurilor mult mai mari. Valoarea diagnostică şi prognostică a acestor metode a fost verificată în trialuri mari ca VHeFT I şi II, SAVE şi altele. Mortalitatea nu a fost găsită corelată liniar cu scăderea FE, ea crescând abrupt la FEVS sub 25% [12]. Creşterea FEVS iniţial scăzută a fost găsită ca fiind un factor de prognostic favorabil. Pe de altă parte, în trialul VHeFT II în care enalaprilul a fost comparat cu asocierea de ISDN – hidralazină, deşi creşterea FE a fost mai mare sub această asociere, scăderea mortalităţii a fost mai mare sub enalapril. Acest fapt a fost explicat prin efectele enalaprilului de antagonizare a SRA [3] şi el arată că pe lângă indicii hemodinamici ai remodelării au valoare prognostică şi cei care evaluează activarea NH. Un argument în favoarea acestei afirmaţii sunt rezultatele analizei retrospective a datelor trialului SAVE. Neurohormonii găsiţi crescuţi frecvent în faza acută a IMA au revenit în timp scurt la normal la pacienţii care nu au mai prezentat evenimente noi de-a lungul a 38 de luni de urmărire. Din contră, pacienţii asimptomatici care au prezentat evenimente noi în următoarele 3 luni au avut nivele crescute plasmatice de ARP, NE, PNA şi de aldosteron la 10 zile după IM [25].

Aceste observaţii sugerează că măsurarea neurohormonilor asociată ecocardiografiei oferă informaţii suplimentare asupra remodelării şi prognosticului şi de asemenea ar permite o terapie mai diferenţiată.

Datele disponibile în prezent nu permit încă recomandări ferme în acest sens, dar este de aşteptat ca în viitor profilul NH, inclusiv ARP şi aldosteronul plasmatic să fie utilizat de rutină în evaluarea pacienţilor cu risc de remodelare şi de IC.

6.1.3.7.7. Efectul intervenţiilor terapeutice asupra remodelării

În ultimul deceniu, în aprecierea eficienţei intervenţiilor terapeutice în IC, s-a trecut de la efectele asupra simptomelor, care s-a văzut că nu sunt corelate cu prognosticul, la efectele asupra morbidităţii şi mortalităţii care au devenit „end-point" în trialurile mari (tabelul 6.9.). Până recent reducerea sau reversia remodelării VS nu a constituit un obiectiv al terapiei IC. Analizele retrospective efectuate în trialurile mari din IC au arătat însă că efectele benefice ale unor intervenţii terapeutice asupra morbidităţii şi mortalităţii s-au asociat practic constant cu ameliorarea indicilor de

Scanned with OKEN Scanner

remodelare a VS. Până în prezent astfel de efecte au fost documentate pentru IECA şi betablocantele carvedilol, metoprolol şi bisoprolol. Astfel, volumul telediastolic şi telesistolic au fost semnificativ mai mici după 12 luni la pacienţi trataţi cu enalapril comparativ cu placebo în trialul SOLVD (197 versus 210 ml şi respectiv 145 versus 156 ml, p<0,03). Acelaşi efect l-a avut la 12 luni şi carvedilolul în trialul ANZ, deşi pacienţii sub placebo erau trataţi şi cu IECA (178 versus 194 ml şi respectiv 121 versus 139 ml. p<0,01). Asocierea IECA cu carvedilolul a avut efecte aditive asupra remodelării, aşa cum a rezultat din datele prezentate mai sus şi, de asemenea, asupra mortalităţii. Astfel, în cele două trialuri amintite mai sus, mortalitatea la 6 luni a fost de 9,8% sub placebo, 7,1% sub IECA, 7,8% sub IECA plus placebo şi 3,2% sub IECA plus carvedilol [date sintetizate de Cohn şi colab., 12] (tabelul 6.6.).

Efectele ARA şi ale antagoniştilor aldosteronului asupra remodelării VS sunt foarte probabile, dar neexistând evidenţe ferme rezultate din trialuri, ele nu au fost incluse în materialul forumului asupra remodelării. În prezent se derulează numeroase trialuri care au ca obiectiv şi efectele acestor medicamente asupra remodelării, trialuri care urmează să fie finalizate în anii următori.

Educarea medicilor practicieni şi a pacienţilor a devenit imperios necesară pentru asigurarea complianţei la tratamentul actual al IC. Acest tratament a devenit complex, mai costisitor şi cu risc mai mare de efecte adverse. Medicii practicieni şi pacienţii trebuie să fie informaţi asupra faptului că efectele benefice asupra remodelării, morbidităţii şi mortalităţii se manifestă pe termen lung, nu se însoţesc de o ameliorare simptomatică imediată, betablocantele producând uneori chiar o agravare iniţială. În general, ameliorarea simptomatică produsă de asocierea IECA – betablocante apare după 1 – 2 luni de tratament.

6.1.3.8. Remodelarea arterială în insuficienţa cardiacă

În IC circulaţia periferică se caracterizează prin creşterea rezistenţelor periferice şi a tonusului venos, cu consecinţă creşterea postsarcinii VS şi respectiv a presarcinii, cu creşterea presiunii de umplere. Deşi aceste tulburări au rol compensator, intervenind la tendinţa scăderii debitului cardiac, pe termen lung ele contribuie la progresivitatea IC [89]. Înţelegerea contribuţiei circulaţiei periferice la patogenia IC a dus la introducerea în anii '70 a terapiei vasodilatatoare (tabelul 6.2.). Privite iniţial simplist ca o vasoconstricţie indusă de scăderea debitului cardiac, în prezent există date care arată că aceste tulburări sunt mult mai complexe şi cu implicaţii terapeutice importante.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 6.6. Efectul intervenţiilor farmacoterapeutice asupra mortalităţii, morbidităţii şi remodelării VS la pacienţi cu disfuncţie sistolică de Vs±IC (modificat după 12)

Clasa de medicamente	Medicamente	Efecte asupra:		
		Mortalităţii	Morbidităţii	Remodelării VS
Digitalice	Digoxin	0	scăderea numărului de spitalizări?	...?
Inotropice	Milnirona	–	–	?
Vasodilataatoare	ISDN + Hidralazină	+	?	creşterea FE
	Prazosin	0	?	0
Antagonişti de calciu	Diltiazem	–	–	?
	Felodipină	0	0	creşterea FE (tranzitor)
	Amlodipină	0	0	?
IECA (după IMA şi IC cronică)	Captopril Enalapril Lisinopril	+	+	+ (creşterea inconstantă a FE şi efect asupra dilatării VS)
Betablocante	Bisoprolol Metoprolol Carvedilol	+	+	+ (creşterea FE, efect asupra dilatării VS)

Legendă: +: efect favorabil
0: fără efect
–: efect defavorabil
?: efect necunoscut
...?: efect insuficient documentat

Scanned with OKEN Scanner

6.1.3.8.1. Redistribuția debitului cardiac în IC

Rezistențele periferice sunt crescute în IC mai ales la efort și există o corelație inversă între această tulburare și scăderea debitului cardiac. Vasoconstricția din IC interesează artere mici, mai ales din teritoriul cutanat, muscular striat, renal și mezenteric, cu rezultat scăderea perfuziei acestor organe. Circulația cerebrală și coronariană este menținută corespunzătoare la scăderi importante ale debitului cardiac, până în stadii terminale de IC [89].

Redistribuția debitului cardiac scăzut în IC are deci obiectivul menținerii perfuziei organelor vitale și ea este asemănătoare cu cea observată la subiectul normal la efort. Deosebirea constă din faptul că la subiectul normal DC suplimentar la efort este dirijat la musculatura în travaliu, unde rezistențele arteriale scad. La pacienții cu IC creșterea debitului cardiac la efort este limitată, ca și perfuzia musculaturii în travaliu. Expresia clinică a acestor anomalii este oboseala musculară precoce la activitate fizică, la care se adaugă paloarea produsă de vasoconstricția cutanată și nicturia explicată prin vasoconstricția renală asociată cu oligurie în cursul zilei și creșterea perfuziei renale și a diurezei în timpul repausului nocturn.

Creșterea rezistențelor periferice în teritoriile menționate este produsă de 3 factori: vasoconstricția, creșterea conținutului de sodiu și de apă din peretele arterial și remodelarea arterelor mici și a arteriolelor. Contribuția acestor factori este încă neclară, dar SRA sistemic și local, din peretele arterial, are un rol important și cu implicații terapeutice.

Vasoconstricția arteriolară este condiționată de factorii neuro-hormonali stimulați în IC (tabelul 6.3.): creșterea activității simpatice și excesul de catecolamine, SRA, endotelinele și AVP. Rolul central al SRA este rezumat în figura 6.2.

Relația dintre creșterea activității SRA și a sistemului nervos simpatic este susținută și de efectele IECA, care produc o scădere a catecolaminelor circulante asociate efectului vasodilatator [34]. Acest efect este asociat în mod particular cu reducerea activității simpatice, spre deosebire de alte vasodilatatoare puternice care produc o stimulare simpatică reflexă.

Relația dintre Ang II și endoteline este sugerată de date experimentale și clinice. Experimental s-a demonstrat că A II stimulează expresia mesagerului ARN al endotelinei [60], iar clinic, Galatius-Jensen și colaboratorii au arătat că în IC fosinoprilul produce o scădere a nivelului plasmatic al endotelinei paralel cu ameliorarea clinică [21]. Efectele posibile ale endotelinei în IC și relația ei cu SRA sunt rezumate în tabelul 6.7.

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 6.7. Endotelinele: proprietăți și relații posibile cu SRA în insuficiența cardiacă

- Vasoconstrictor puternic mai ales în circulația pulmonară
- Efect inotrop
- Stimulează eliberarea de renină și aldosteron și transformarea A I în A II
- Producția de endotelină este stimulată de A II
- Acțiune de factor de creștere: hipertrofia miocitelor și a fibroblaștilor din miocard și peretele vascular

Deși rolul endotelinei și interacțiunea endotelină-SRA în IC nu sunt clare, cercetările preliminare efectuate la om cu un antagonist al receptorilor endotelinei, bosentanul, sunt promițătoare și ele sugerează un efect aditiv cu cel al IECA [18].

Disfuncția endotelială, evidențiată în IC prin alterarea răspunsului vasodilatator la acetilcolină în arterele mușchilor scheletici din extremități, cu menținerea efectului nitroglicerinei, a fost demonstrată de Drexler și colab. Același autor a arătat în studii experimentale că IECA normalizează funcția endoteliului arterial la șobolani hipertensivi [91, 92]. Acest efect pare să fie mediat de bradikinină, a cărei inactivare este redusă de IECA. Mai mult, NO produs de endoteliu și stimulat de bradikinină are pe lângă efect vasodilatator și un efect inhibitor asupra creșterii și proliferării structurilor peretelui vascular [93, 152]. Ca și în cazul SRA miocardic există observații experimentale și la om după care genotipul DD al ECA este asociat cu disfuncție endotelială [94]. Acest efect are un mecanism de acțiune neclar, dar el poate fi explicat fie prin reducerea formării de NO mediată de bradikinină, fie printr-o inactivare crescută a NO. O observație clinică recentă arată că în disfuncția endotelială din IC intervine și aldosteronul atât direct, cât și prin amplificarea acțiunii A II produsă *via* ECA arterială, efecte ce pot fi antagonizate de spironolactonă [55].

Creșterea conținutului de sodiu și de apă din peretele arterelor mici în IC a fost demonstrată experimental și la om. Ca și în hipertensiune, această anomalie amplifică efectul factorilor vasoconstrictivi.

6.1.3.8.2. Remodelarea arterelor mici în IC

Scăderea perfuziei musculare și absența unei vasodilatații corespunzătoare la efort condiționată prin factori metabolici a fost pusă pe seama vasoconstricției produsă prin mecanismele amintite mai sus. Deși acest mecanism are o contribuție certă, el nu explică unele date rezultate din studii clinice:

– capacitatea vasodilatatorie la efort a arterelor ce irigă musculatura membrelor inferioare, redusă în IC, nu este restabilită după

Scanned with OKEN Scanner

administrarea unui alfablocant (Zellis şi colaboratorii, Le Jemtel şi colaboratorii, citaţi de 92];
– deşi administrarea acută a unor vasodilatatoare directe ca hidralazina sau a unor inotropice creşte fluxul sanguin în musculatura în travaliu, durata efortului şi consumul de oxigen nu cresc [91, 92];
– IECA produc în administrare acută o ameliorare a hemodinamicii centrale, o scădere a Ang II şi a norepinefrinei circulante, dar nu şi a vasodilataţiei metabolice musculare de efort. Sub tratament peste 3 luni cu IECA capacitatea vasodilatatoare a arterelor musculare creşte paralel cu ameliorarea prestaţiei la efort [91, 92];
– există o corelaţie între fluxul sanguin în musculatura scheletică la efort maxim şi volumul mitrocondriilor şi a densităţii cristelor acestora [92].

Aceste observaţii sugerează că în IC, deşi fluxul sanguin în musculatura striată poate creşte la efort, o parte din perfuzia suplimentară este şuntată din cauza creşterii rezistenţelor musculare. În plus, musculatura striată suferă modificări morfologice şi metabolice, fapt dovedit prin studii histologice la om. Aceste anomalii sunt lent reversibile sub tratament de durată cu IECA. Pe baza acestor date Drexler consideră că în IC creşterea rezistenţelor arteriolare musculare este rezultatul şi unui proces de remodelare constând dintr-o hipertrofie a mediei, proces reversibil lent sub tratament cu IECA [92]. În favoarea acestui concept pledează şi creşterea extracţiei de oxigen din artera femurală asociată cu o densitate şi un volum mitrocondial crescut în muşchii scheletici ai membrului inferior după tratamentul prelungit cu IECA, efecte demonstrate prin biopsii musculare [92].

Pe plan clinic acest concept explică disociaţia dintre ameliorarea dispneei şi a retenţiei hidrosaline care apare rapid sub IECA şi creşterea tardivă, după mai multe luni de tratament, a toleranţei la activitate fizică.

6.1.3.8.3. Remodelarea arterelor mari în IC

Alterarea structurii şi distensibilităţii arterelor mari de conductanţă şi consecinţele asupra funcţiei inimii sunt în prezent cunoscute în HA, ateroscleroză, diabet zaharat şi la vârstnici. Aceste aspecte sunt prezentate la remodelarea arterială în HA.

Remodelarea arterelor mari ca o consecinţă directă a IC a fost puţin cunoscută, deşi teoretic, activarea SRA alături de alţi factori de creştere ar putea interesa şi aceste vase ca şi arterele de rezistenţă unde a fost bine documentată. Domanski şi colaboratorii, într-un studiu publicat recent, au demonstrat valoarea prognostică defavorabilă a creşterii presiunii pulsului

Scanned with OKEN Scanner

determinată prin simpla măsurare a TA, la cei peste 6000 de pacienți recrutați în trialurile SOLVD – Prevention și SOLVD – Treatment [95]. Valoarea predictivă a acestui indice s-a menținut și după corecția prin analiza multivariantă a intervenției altor factori în evoluția IC. Autorii explică această observație prin scăderea complianței vaselor mari, produsă de creșterea miocitelor și a colagenului. Scăderea distensibilității vaselor de conductanță produce, ca și în cazul HA și a aterosclerozei, o creștere suplimentară a postsarcinii care contribuie la progresia IC. IECA ar putea acționa și la acest nivel oprind sau favorizând regresia remodelării arterelor mari. Intervenția și a aldosteronului în acest proces este sugerată de observațiile lui Duprez și colaboratorii [56]. Autorii citați au găsit la pacienți cu forme moderate de IC și sub tratament diuretic stabil o relație inversă între complianța arterelor mari și nivelul aldosteronului plasmatic, relație absentă pentru Ang II circulantă. Deși efectul antagonizării aldosteronului asupra complianței arterelor mari nu este cunoscut, el pare probabil [90] și începe să fie cercetat în trialuri clinice.

6.1.3.9. TRATAMENTUL CU INHIBITORI AI ENZIMEI DE CONVERSIE A ANG I ÎN INSUFICIENȚA CARDIACĂ

Mecanismele de acțiune pe care se bazează utilizarea IECA în IC sunt rezumate în tabelul 6.8., iar trialurile clinice mari care le-au dovedit eficiența sunt prezentate în tabelul 6.9.

Indicațiile IECA sunt ferme în IC prin disfuncție sistolică de VS produsă de cardiopatia ischemică, hipertensivă și din cardiomiopatiile dilatative [7, 8, 11, 34]. IECA sunt de asemenea indicați în IC evidentă din insuficiența mitrală și aortică, inclusiv după protezare valvulară [6]. Administrarea IECA este recomandată încă din stadiul de disfuncție sistolică de VS asimptomatică din cardiopatia ischemică, hipertensivă și din cardiomiopatiile dilatative. În insuficiențele valvulare mitrale și aortice indicațiile administrării precoce a IECA nu sunt clare, dar ei pot fi utilizați.

În IC de toate formele de severitate IECA sunt medicația de bază: în forme ușoare ca monoterapie, în forme cu simptome persistente sau cu retenție hidrică în asociere cu diuretice și mai nou cu betablocante, iar în forme severe IECA se asociază cu digitală, diuretice și eventual cu spironolactona [7, 8, 11, 34, 67].

Contraindicațiile IECA sunt stenozele valvulare semnificative, cardiomiopatia obstructivă, stenoza bilaterală de arteră renală, hipotensiunea persistentă (TA sistolică sub 90 mmHg), insuficiența renală cu creatinina serică persistentă sau în creștere peste 2 și respectiv 2,5 mg% și sarcina [7, 8, 11, 34].

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 6.8. Modul de acțiune și efectele IECA în IC

Antagonizare	Vase	Cord	Rinichi	Activ. NH	Creier	Implicații clinice	
						Favorabile	Risc de efecte adverse
SRA circulant (tardiv; precoce tranzitor)	– dilatare – scade TA (+/-)	– scad: • postsarcină • presarcină • remodelare –cresc FEVS	– cresc diureza – scad rezist. arterei renale (+/- pres. în art. eferentă)	– scad: • act. simpatică și catecolaminele • aldosteronul • endotelinele	– scad setea	– ameliorare clinică; – reduc: • progresia IC • morbiditatea • mortalitatea	hipotensiune +/- alterarea funcției renale toleranță scăzută la hipovolemie hiperpotasemie
SRA tisular (precoce și tardiv)	–dilatare (antagonizarea factorilor vasoconstrictivi locali) – reduce/-opreşte remodelarea	– reduc/opresc remodelarea – vasodilatație coronariană (efect atiischemic și antiaritmic)	idem	idem (efect local pe cord și vase)	Idem (efect local?)	– previn disfuncția VS, IC – reduc: • progresia IC • moartea subită • recidiva IM (scad morbiditatea și mortalitatea)	idem (?)

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 6.9. Trialurile clinice mari cu IECA în disfuncția sistolică a VS și în IC

1. Intervenții precoce
[disfuncție VS asimptomatică (FE<40%) sau IC ușoară (NYHA I – II)]

TRIAL (acro-nim)		CARDIOPATIA	PROTOCOL	DURA-TĂ (luni)	REZULTAT
SAVE *[1]*	2231	IMA (3-16 zile)	Captopril v. placebo	42	- 19% mortalitate - 22% spitalizări pt. IC - 25% recurența IM
TRACE [188]	1749	IMA (3-7 zile)	Trandolapril v. placebo	24	- 22% mortalitate
SMILE [187]	1556	IMA (24 ore)	Zofenopril v. placebo	12	- 25% mortalitate - 46% IC severă
AIRE [186]	2006	IMA (ziua 3-10)	Ramipril v. placebo	15	- 27% mortalitate
SOLVD Prevention [2]	2111	Disfuncție VS asimptomatică ischemică sau neischemică	Enalapril v. placebo	37	- 8% mortalitate (NS) - 37% IC
MHFT [98a]	170	IC ischemică și neischemică NYHA I – II	Captopril v. placebo	32	- 80% risc progresie la IC clasa III – IV

2. Intervenții tardive
(IC ischemică și neischemică)

TRIALUL (acronim)		CARDIO-PATIA	PROTOCOL	DURATA (luni)	REZULTAT
CONSENSUS *[80]*	127	Clasa IV	Enalapril v. Placebo	6	- 40% mortalitate
VHeFT II [3]	804	Clasa II – III	Enalapril v. ISDN + hidralazină	30	- 28% mortalitate - 36% morți subite
SOLVD Treatment [81]	2569	Clasa II – III	Enalapril v. placebo	41	- 16% mortalitate - 22% spitalizări pt. IC

6.1.3.9.1. IECA în infarctul miocardic acut

Trialurile clinice în care au fost recrutați pacienți cu IMA asociat cu disfuncție sistolică (FEVS sub 40%) sau cu manifestări clinice de IC, au demonstrat o reducere a mortalității între 19 și 29%, a morbidității legate de IC, evaluată prin rata spitalizărilor pentru IC cu 22%, a IC severe cu 46% și a recurenței IMA cu 25% (tabelul 6.9.) [1, 2, 186-188].

În alte 2 trialuri, GISSI – 3 cu lisinopril și ISIS – 4 cu captopril, în care IECA a fost administrat precoce și în absența IC sau a disfuncției VS, s-a găsit, de asemenea, o diferență semnificativă în ce privește mortalitatea și apariția IC [96, 97].

Scanned with OKEN Scanner

Rezultatele benefice ale administrării IECA în IMA pot fi explicate în prezent prin acțiunea lor asupra prevenirii, încetinirii sau chiar a opririi remodelării structurale miocardice. Utilizarea IECA alături de alte medicamente ca tromboliticele, aspirina și betablocantele a redus în ultimul deceniu mortalitatea precoce în IMA de la 15–20% la sub 10% [98]. Pe baza acestor observații se recomandă în prezent instituirea cât mai precoce a IECA, imediat după stabilizare hemodinamică și a TA, la pacienții cu IMA și cu IC sau cu disfuncție VS asimptomatică. Deși dovezile nu sunt atât de ferme, IECA sunt probabil benefici și la pacienții hipertensivi la care valorile TA se mențin crescute și la cei cu IMA anterior întins sau recidivat fără IC sau disfuncție sistolică de VS.

6.1.3.9.2. Tratamentul precoce al disfuncției VS asimptomatice sau a formelor incipiente-ușoare de IC

La pacienții fără IMA, deși mortalitatea nu a fost găsită scăzută semnificativ, riscul apariției IC s-a redus cu 37% în trialul SOLVD – Prevention [2], iar cel al IC severe (clasa NYHA III – IV) a scăzut în trialul MHFT cu 80% (tabelul 6.9.) [98a]. Rezultatele acestor studii constituie argumente serioase în favoarea efectului IECA de a reduce sau a opri progresia IC. Observații proprii la o serie mică de pacienți sunt în concordanță cu rezultatele menționate [99].

IECA în IC moderate și severe au fost cercetați în trialurile SOLVD – Treatment [81] și VHeFT II [3], în care majoritatea pacienților au fost în clasa NYHA II – III și în trialul CONSENSUS care a recrutat numai pacienți în clasa IV (tabelul 6.9.) [80]. Deși mortalitatea globală a scăzut semnificativ sub IECA (tabelul 6.9.) ea a rămas importantă în toate cele 3 trialuri: 35%, 33% și respectiv 39% [3, 80, 81].

Rezultă că în forme mai avansate și severe de IC, IECA deși reduc morbiditatea și prelungesc supraviețuirea, aceste efecte sunt inconstante și limitate. Explicația limitelor IECA în terapia IC constă în variațiile individuale în factorii implicați în progresivitatea IC, inclusiv în activarea neurohormonală. Relația directă între gradul activării neurohormonale și răspunsul la tratament observat în trialul CONSENSUS constituie un argument în acest sens [22]. Diferențele în genotipul factorilor implicați în progresia IC și amintiți la capitolul „Remodelarea cardiacă" pot explica răspunsul diferit la tratament cu IECA [85-87].

Pe de altă parte trebuie avut în vedere că IECA constituie o intervenție numai asupra uneia din componentele activării neurohormonale din IC (tabelul 6.3.). Antagonizarea și a altor componente a fost urmată de o reducere suplimentară a morbidității și mortalității legate de IC. Adăugarea betablocantelor la IECA s-a asociat cu o mortalitate globală de 12% în

Scanned with OKEN Scanner

trialul CIBIS II cu bisoprolol [100] în care majoritatea pacienților recrutați au fost în clasa NYHA II – III. În trialul RALES, care a inclus pacienți cu clasa NYHA III și IV, tratați cu IECA și o parte cu betablocante, mortalitatea a fost de 35% [52].

Aceste observații arată că intervențiile pe activarea neurohormonală au efect aditiv. Rezultatele promițătoare ale unor studii preliminare cu antagoniști ai receptorilor endotelinei (bosentan) și ale inhibitorilor endopeptidazelor neutre, care inactivează peptidele natriuretice atriale [18, 19] arată că pe viitor există premisele unei reduceri și mai mari a morbidității și mortalității în IC. Prețul obținerii acestor rezultate este însă asocierea unui număr mare de medicamente, fapt care face dificilă aderența pacienților la terapia de durată.

Dozele de IECA utilizate în IC constituie o problemă controversată. Rezultatele favorabile cu IECA au fost obținute cu doze considerate de specialiști „optime", dar pe care practicienii le consideră prea mari. Ca urmare, practicienii folosesc frecvent doze mult mai mici (tabelul 6.10.). Cauza acestor posologii diferite este faptul că ameliorarea simptomelor apare adesea la doze mici, care sunt în general bine suportate, în timp ce dozele mari sunt considerate ca fiind agresive, mai ales pentru riscul de hipotensiune. Practicienii tind să extindă efectele dozelor mici de IECA asupra simptomelor și asupra morbidității și mortalității, fapt însă nedovedit [101].

Pe baza datelor existente în prezent, în terapia IC, dozele optime de IECA sunt cele „mari", iar dacă acestea nu sunt suportate, dozele maxime tolerate [101]. În favoarea acestei atitudini există argumente experimentale și clinice.

Tabelul 6.10. IECA: dozele optime și dozele utilizate curent de practicieni în tratamentul IC

	Doze optime (mg/zi)	Doze suboptime (mg/zi)
CAPTOPRIL	75 – 150	25 – 50
ENALAPRIL	20 – 40	2,5 – 10
LISINOPRIL	30 – 40	2,5 – 10

Inhibiția plasmatică a ECA se obține cu doze mici de IECA [34]. Pe de altă parte Drexler și colaboratorii au arătat că prevenirea remodelării după IMA la șobolan se obține cu doze mari de lisinopril echivalente cu 25 mg/zi. Studii clinice și experiența practică au arătat că dozele mici de IECA

Scanned with OKEN Scanner

au efecte hemodinamice. Mai mult, Motwani şi colaboratorii au găsit că minidoze de 1 mg captopril cresc natriureza produsă de furosemid [41].

Studiile clinice asupra relaţiei de durată doză-efect sunt puţine. Pacher şi colab. au găsit la pacienţi cu IC severă că dozele „mari" de enalapril (40 mg/zi) au un efect semnificativ mai mare asupra clasei NYHA şi marginal semnificativ (p=0,09) asupra norepinefrinei circulante. Diferenţele între efectele asupra reninei, aldosteronului şi peptidelor natriuretice plasmatice au fost nesemnificative, deşi dozele mari au avut un efect supresiv mai mare [102].

Trialul NETWORK, care a comparat efectele unor doze diferite de enalapril asupra evoluţiei clinice şi a mortalităţii, nu a găsit diferenţe semnificative între doze, dar studiul a fost considerat neconcludent din cauza modului de organizare a acestuia [103]. Rezultatele trialului ATLAS finalizat recent şi care a cercetat această problemă la 3164 pacienţi randomizaţi la lisinopril în doze mari (32,5–35 mg/zi) sau doze mici (2,5 şi 5 mg/zi) a dat rezultate mai concludente. La pacienţii trataţi cu doze mari mortalitatea cardiovasculară a fost cu 10% mai mică (nesemnificativ statistic), dar mortalitatea plus spitalizări pentru IC au fost mai mici cu 15% (p=0,001), iar spitalizările pentru IC cu 24% (p=0,002). Un rezultat important al trialului a fost că efectele adverse, inclusiv hipotensiunea, deşi au fost ceva mai frecvente sub doze mari, diferenţele au fost nesemnificative [104]. Datele rezultate din trialul ATLAS sunt asemănătoare cu observaţiile lui Luzier şi colaboratorii. Pacienţii cu IC trataţi cu doze sub 5 mg enalapril pe zi au avut o rată de spitalizări similară cu cea observată la pacienţii trataţi cu digitală şi diuretice, în timp ce la cazurile tratate cu doze peste 10 mg/zi reinternările au fost reduse cu 30% [105].

Rezultatele observaţiilor clinice şi experimentale sugerează că şi dozele „mici" au efecte hemodinamice şi de antagonizare a SRA circulant. Acţiunea asupra SRA tisular, care are rol major în remodelarea cardiovasculară şi în progresivitatea IC, necesită însă doze mari. O observaţie recentă a lui Gullestad şi colaboratorii arată că dozele mari, de 40 mg enalapril pe zi, scad nivelul plasmatic al IL-6, scădere corelată semnificativ cu reducerea grosimii septului interventricular după 34 de săptămâni de tratament, efecte absente la doze de 5 mg/zi [83]. Faptul că doar dozele mari de IECA au produs o scădere a concentraţiei plasmatice a IL-6 şi a remodelării VS constituie un argument în plus pentru utilizarea în clinică a dozelor mari. În contrast cu aceste consideraţii ştiinţifice pentru practicieni credem că observaţia lui Packer este cea mai concludentă: „Dacă efectul IECA asupra simptomelor pare insuficient se pot creşte dozele; dacă pacientul decedează ..."*.

* Comunicare orală

Scanned with OKEN Scanner

Reținerea practicienilor de a utiliza IECA, în general, și mai ales a dozelor optime este dată de frica de hipotensiune simptomatică și de relația evidentă act medical – efect advers.

Hipotensiunea poate apărea ca efect de prima doză sau în cursul tratamentului de durată. Efectul de prima doză care este întâlnit uneori și la pacienții hipertensivi poate fi prevenit în IC prin începerea tratamentului cu IECA cu doze mici (6 mg captopril, 2,5 mg enalapril) la pacient stabil volemic. Într-un studiu comparativ al lui Squire, MacFadyen și colab., cel mai mic efect de prima doză a fost găsit pentru perindopril [106], observație confirmată și la o serie proprie [107, 108].

În IC tendința de hipotensiune sub IECA ține de 2 factori: de efectul lor vasodilatator și de antagonizarea răspunsului homeostazic normal la scăderea volumului circulant efectiv și la hipovolemie. Inhibiția senzației de sete și un aport insuficient de lichide pot contribui la acest efect.

La pacienții cu forme ușoare-moderate de IC, netratați viguros cu diuretice, echilibrul volemic este în general menținut, iar efectul vasodilatator este corectat prompt de creșterea debitului cardiac. Riscul hipotensiunii este minim, mai ales la pacienții hipertensivi. În aceste cazuri creșterea pe trepte de câteva zile a dozelor se poate face până la atingerea dozelor optime. Pacienții cu IC severă și care la prezentare au o retenție hidrică mare, de 10–20 kg, condiție din păcate frecventă în România, pun într-adevăr probleme dificile de tratament cu IECA. La această categorie de pacienți TA sistolică este adesea joasă, 90–105 mmHg, și poate să scadă și mai mult ca urmare a tratamentului diuretic. Pe de altă parte însăși TA joasă constituie un indicator de severitate a IC. Domanski și colaboratorii au găsit la cei peste 6000 de pacienți incluși în trialurile SOLVD o corelație inversă între mortalitate și presiunea arterială medie la intrarea în studiu. Această relație este explicată de efectul scăderii debitului cardiac asupra presiunii arteriale medii [95].

Tratamentul cu IECA poate fi efectuat și la această categorie de pacienți după eliminarea retenției hidrice și întreruperea pentru 1–3 zile a diureticelor. Dozele inițiale trebuiesc să fie mici, creșterea dozelor se face la intervale de timp mai mari, de 4–5 zile, sau chiar săptămâni. Diureticele se reiau în dozele minime care previn creșteri importante în greutate și agravarea simptomelor și se întrerup cu una-două zile înainte de creșterea următoare a dozelor de IECA. Utilizând acest mod de creștere a dozelor se poate obține un dozaj optim de IECA la peste 50% din pacienții din această categorie. Perioada necesară obținerii acestui efect este însă de câteva săptămâni, uneori și două luni, și impune două-trei internări. La unii pacienți dozele optime nu pot fi atinse și se acceptă terapia cu doze mici. Doar la o minoritate, sub 10%, hipotensiunea împiedică efectuarea

Scanned with OKEN Scanner

tratamentului cu IECA. În această categorie intră şi pacienţii la care valorile joase de TA sistolică se asociază cu o alterare progresivă a funcţiei renale.

Pacienţii se stabilizează de regulă volemic (greutatea uscată) şi clinic la asocierea IECA – diuretice. TA revine adesea la valori normale (TA sistolică 120-130 mmHg) sau chiar „hipertensive" după depleţia hidrosalină brutală de la începerea tratamentului. La unii pacienţi ameliorarea şi stabilizarea clinică se asociază cu TA joasă asimptomatică (TA sistolică 85–95mmHg). Această condiţie, deşi bine tolerată, sperie practicienii care întrerup adesea nejustificat IECA. Toleranţa surprinzător de bună a TA joase sub IECA asociată cu efectele ei benefice l-a făcut pe Sleigh să recomande „testul nasului" la pacienţii cu IMA: „Dacă pacientul are nasul cald şi citeşte ziarul, ignoră TA" [109]. Desigur, afirmaţia este o exagerare, dar ea subliniază faptul că valorile joase şi asimptomatice ale TA nu trebuie să priveze pacientul de o terapie eficientă.

6.1.3.9.3. Funcţia renală sub tratament cu IECA

În IC severă fluxul sanguin renal este scăzut. Filtratul glomerular este însă puţin afectat datorită creşterii fracţiei filtrate produsă de vasoconstricţia predominantă a arteriolelor eferente sub acţiunea Ang II. Expresia clinică a acestor modificări este creşterea moderată a creatininei serice care revine adesea la valori normale după ameliorarea sub tratament a IC. Creşterea rezistenţelor arterelor renale este dependentă de Ang II. Sub tratament cu IECA, care reduce vasoconstricţia arteriolelor aferente şi eferente, filtratul glomerular poate să scadă, cu consecinţă creşterea creatininei serice. Acest fenomen, bine studiat în trialul CONSENSUS [42] este de regulă de amplitudine mică şi tranzitor. La unii pacienţi, un nivel crescut de creatinină serică între 1,5–2mg% se menţine sub tratament cu IECA dar fără repercusiuni clinice. Insuficienţa renală evidentă este rară şi ea apare de regulă la pacienţii la care se asociază şi hipotensiune. Întreruperea IECA este urmată de revenirea funcţiei renale la nivelul anterior tratamentului. Hipovolemiile intercurente pot produce de asemenea insuficienţă renală, de regulă tranzitorie. Alterarea funcţiei renale se poate asocia cu hiperpotasemie, mai ales la pacienţii la care se suplimentează potasiul medicamentos, sau la care se asociază spironolactona.

Implicaţiile practice ale efectelor IECA asupra funcţiei renale sunt necesitatea controlului creatininei serice şi a potasemiei mai frecvent la instituirea tratamentului şi periodic, sub tratamentul de durată [7].

Scăderea toleranţei la hipovolemie sub tratament cu IECA este consecinţa antagonizării mecanismelor homeostatice normale mediate de Ang II. Hipovolemiile induse de condiţii intercurente ca hemoragii sau de cauze banale cum sunt diareea, vărsăturile, transpiraţiile abundente produse

Scanned with OKEN Scanner

de infecții sau chiar de căldurile estivale pot produce hipotensiune simptomatică și uneori insuficiență renală acută. Aceste incidente pot fi prevenite și corectate rapid prin instruirea pacienților asupra necesității unui aport crescut de lichide în condițiile amintite și, la nevoie, oprirea temporară a IECA.

6.1.3.9.4. Efectele adverse ale IECA

Sunt: hipotensiunea simptomatică (ameteli, lipotimii și angină la coronarieni), insuficiența renală acută, hiperkaliemia, reacțiile cutanate, angioedemul și tusea. Problema hipotensiunii a fost prezentată mai sus. Insuficiența renală asociată hipotensiunii, mai ales la pacienți hipertensivi, ridică suspiciunea unei stenoze bilaterale de arteră renală, condiție în care perfuzia renală este dependentă de Ang II.

Hiperpotasemiile pot apărea când se asociază diuretice care economisesc potasiu, la suplimentarea de potasiu medicamentos și în insuficiența renală. În cazuri rare, hiperkaliemia apare și în absența acestor condiții și este explicată printr-un efect supresiv neobișnuit asupra producției de aldosteron [34]. Prevenirea și corectarea promptă a hiperkaliemiei impun controlul mai frecvent al acestui ion la instituirea tratamentului și periodic, în tratamentul de durată. Asocierea spironolactonei și o funcție renală la limită impun controale mai frecvente.

Angioedemul afectând și laringele este o complicație foarte rară, dar potențial letală. Accidentul apare de regulă în primele 48 de ore de tratament și foarte rar după acest interval [34]. Cauza angioedemului nu este clară dar pare să fie legată de un răspuns excesiv la bradikinină [Ferner citat de 34]. Apariția acestui efect advers constituie o contraindicație fermă a IECA, deoarece pare să fie efect de clasă.

Manifestările cutanate constând în rash cu sau fără prurit par să fie reacții alergice legate de structura chimică a preparatului; ca urmare schimbarea IECA permite de regulă continuarea tratamentului.

Tusea seacă și iritativă este un efect advers a cărui incidență este greu de estimat în IC unde ea este adesea un simptom. Tusea pare să apară la 6–10% din pacienți și poate impune întreruperea tratamentului. Cauza tusei este neclară, dar pare legată de excesul de bradikinină care ar crește unele prostaglandine. Captoprilul în doze uzuale poate produce foarte rar ageuzie.

Efectele adverse care impun întreruperea tratamentului cu IECA apar la 15–20% din pacienții tratați [2, 81, 104].

6.1.3.9.5. Diferențele dintre diversele preparate de IECA în IC

În prezent există 13 preparate comerciale de IECA, din care doar 6 au fost testate în trialuri mari în IC și în IMA: captoprilul, enalaprilul,

Scanned with OKEN Scanner

lisinoprilul, ramiprilul, trandolaprilul şi zofenoprilul. Restul preparatelor de IECA au fost încercate în trialuri mici cu rezultate în general pozitive şi asemănătoare cu celelalte. Pentru practicieni există dificultăţi şi confuzie în alegerea preparatelor, mai ales că industria face presiuni pentru preparatul propriu creditat cu efecte superioare.

Între preparatele de IECA există diferenţe de structură chimică, de farmacocinetică şi posibil de farmacodinamie şi de efecte clinice (tabelul 6.14.).

După structura chimică IECA se pot clasifica în 3 grupe: preparate care conţin sau nu gruparea sulfhidril şi preparate, de fapt doar unul, fosinoprilul, care conţine gruparea fosforil, iar după solubilitate în preparate liposolubile şi hidrosolubile. După forma activă a substanţei unele preparate cum este captoprilul şi lisinoprilul sunt active ca atare, în timp ce restul considerate „prodrug" sunt inactive şi se activează în ficat, substanţa activă primind sufixul „prilat" [34].

Farmacocinetica diferă în ce priveşte biodisponibilitatea substanţei active, calea de eliminare exclusiv renală sau mixtă, renală şi biliară, $T_{½}$ plasmatic, proprietate corelată cu durata acţiunii şi distribuţia care este determinată de diferenţe de lipofilie (tabelul 6.14.).

Farmacodinamia. Există diferenţe bine documentate şi la om în ce priveşte gradul inhibiţiei ECA plasmatice [34]. Diferenţele de lipofilie ar trebui teoretic să fie asociate cu o acţiune mai intensă asupra sistemului nervos central, fapt însă nedovedit experimental sau în clinică [34]. Există însă observaţii care arată că cilazaprilul [110] şi perindoprilul [106], care sunt mai liposolubile, au efecte mai mari asupra endoteliului, producând o vasodilataţie dependentă de NO mai mare decât enalaprilul care are o lipofilie mai redusă [34]. După unele date experimentale şi clinice ar putea exista şi diferenţe asupra ECA tisulare, unele preparate ca perindoprilul, cilazaprilul şi quinaprilul având efecte mai mari de reducere a remodelării arteriale [34, 106, 110].

Pe baza datelor existente în prezent, acţiunea IECA în IC şi HA este un efect de clasă. Diferenţele între preparate care s-au dovedit a avea implicaţii clinice, sunt timpul de instalare şi durata efectului, proprietăţi care determină numarul de doze, intervalul dintre ele şi ritmul de creştere a dozelor şi de asemenea „efectul de primă doză".

După timpul de instalare a efectului şi durata lui, IECA se clasifică în 3 grupe (tabelul 6.14.):

– Preparate al căror efect se instalează şi dispare rapid. În această categorie intră doar captoprilul, care trebuie administrat în trei sau două doze pe zi;

Scanned with OKEN Scanner

– Preparate cu instalare şi durată medie a efectului. Enalaprilul are aceste caracteristici şi necesită două sau o administrare pe zi;
– Preparate cu instalare lentă şi cu durată lungă a acţiunii. În această categorie intră toate celelalte preparate care au o administrare într-o singură doză pe zi.

În IC implicaţiile clinice ale numărului diferit de doze pe zi nu este cunoscut. În HA este dovedită o relaţie inversă între numărul de tablete administrate pe zi şi complianţa la tratament, fapt ce favorizează utilizarea preparatelor cu dozaj unic. În IC o astfel de relaţie nu a fost dovedită. Pe de altă parte în trialurile mari efectuate în IC cronică în anii '80 au fost folosiţi captoprilul şi enalaprilul (tabelul 6.9.), iar medicaţia asociată a conţinut un număr redus de tablete şi de doze: digoxin, diuretic şi eventual nitraţi.

În prezent, terapia IC s-a complicat, asociindu-se frecvent şi 1–2 doze de betablocant şi o doză de spironolactonă, astfel că unui pacient cu IC clasa NYHA III i se administrează de la 7 tablete în sus pe zi. Schema complexă de tratament este greu înţeleasă şi aplicată şi constituie una din cauzele complianţei reduse la tratament. Din acest motiv utilizarea unui IECA cu administrare unică ar fi binevenită, dar practicienii ezită să înlocuiască IECA „clasici", verificaţi în trialurile clinice mari, cu preparate insuficient verificate. Trialuri mai mici cu perindopril [111] şi cu fosinopril versus enalapril [112] par să favorizeze şi în IC preparatele cu o singură administrare şi este de aşteptat ca ele să devină larg utilzate şi în IC.

Ritmul de creştere a dozelor spre dozajul optim s-a dovedit mai lung pentru captopril decât pentru enalapril şi perindopril. Observaţiile proprii au arătat că atingerea unei doze medii de captopril de 58 mg/zi (n=156) a necesitat o durata medie de 12 zile, iar pentru o doză medie de enalapril de 16 mg/zi (n=80) o durată medie de doar 6 zile [113]. Într-un trial cu perindopril (PEP – CHF Study) [114], pe baza experienţei anterioare a investigatorilor, în concordanţă şi cu observaţiile noastre [108], creşterea de la doza iniţială de 2 mg la cea optimă de 4 mg s-a făcut în 7 zile. Acest aspect este foarte important în România unde frica de hipotensiune a practicienilor impune spitalizări pentru obţinerea dozajului optim al IECA, iar utilizarea preparatelor amintite necesită spitalizări mai scurte.

Efectul de primă doză al IECA constă într-o scădere importantă şi uneori simptomatică a TA, chiar la administrarea unor doze mici, recomandate la începerea tratamentului [7, 8, 11]. Hipotensiunea poate să apară şi în zilele următoare, mai ales când se tentează creşterea dozelor. Două studii efectuate de MacFadyen şi colaboratorii [115] şi Squire şi colaboratorii [106] cu ajutorul monitorizării 24 de ore a TA la pacienţi trataţi cu placebo, captopril, enalapril şi perindopril şi respectiv cu enalapril şi perindopril, au arătat că efectul de primă doză al perindoprilului este similar cu placebo, în timp ce captoprilul şi enalaprilul produc o scădere semnificativă a TA.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste diferenţe nu au putut fi explicate de un efect mai redus al perindoprilului asupra inhibiţiei ECA plasmatice, care a fost găsit asemănător pentru cele 3 preparate testate şi nici prin alte diferenţe de legare la receptori între perindopril şi enalapril [106]. Squire şi colaboratorii consideră că aceste diferenţe nu au o cauză clară. Ele ar putea fi explicate printr-o cinetică mai lentă a perindoprilului sau prin diferenţe de acţiune asupa ECA tisulare [106]. Într-un studiu propriu efectuat la pacienţi cu IC şi cu TA „normală – joasă" (TA sistolică: 90–110 mmHg) şi la care efectul perindoprilului la prima doză de 2 mg şi sub tratament cronic cu 2–4 mg/zi, cercetat tot cu monitorizare de 24 ore a TA, a arătat că 88% din cei 25 de pacienţi testaţi au tolerat perindoprilul, iar diferenţele dintre valorile TA sistolice medii, pe 24 ore de control, după prima doză şi sub tratament cronic au prezentat diferenţe nesemnificative (103±8 mmHg, 102±7 mmHg şi respectiv 102±7 mmHg) [108]. Acesastă observaţie confirmă efectul redus de primă doză al perindoprilului şi toleranţa bună a preparatului, chiar la pacienţi cu valori joase ale TA, care au adesea forme severe de IC [95], la care IECA ar putea avea efecte benefice şi la care IECA nu sunt de regulă utilizaţi.

6.1.3.9.6. Limitele terapiei cu IECA în IC

IECA au constituit cel mai mare progres recent în farmacoterapia IC, utlizarea lor ameliorând calitatea vieţii şi crescând durata de supravieţuire la mii de pacienţi. Analiza rezutatelor trialurilor mari arată că deşi diferenţele de evoluţie dintre pacienţii trataţi cu IECA în comparaţie cu placebo sau cu alte preparate sunt foarte semnificative statistic, la mulţi pacienţi IECA nu au avut efecte favorabile (tabelul 6.9.), fapt observat şi în practica clinică. După răspunsul la IECA, pacienţii cu IC pot fi clasificaţi în responsivi, neresponsivi şi cei care nu tolerează IECA. Aşa cum s-a arătat la paragraful „efecte adverse", 10–15% din pacienţi nu tolerează IECA. Din restul pacienţilor aproximativ 60% au un răspuns favorabil la tratament [34]. Cauzele diferenţelor de răspuns la tratament nu sunt clare, dar 2 factori ar putea fi implicaţi: polimorfismul genelor ECA şi un fenomen de „scăpare".

Polimorfismul „insertion/deletion" (I/D) al ECA a fost găsit corelat cu efectele presoare ale Ang II, cu HVS în HA, cu remodelarea cardiacă după IMA, cu apariţia cardiomiopatiilor dilatative primare şi cu răspunsul la IECA şi a fost prezentat la capitolul „Remodelarea cardiacă".

Fenomenul de scăpare al Ang II de supresia produsă de IECA a fost demonstrat recent de Roig şi colaboratorii într-un studiu efectuat la 70 de pacienţi cu IC trataţi cu doze „mari" de captopril sau enalapril şi la care au fost efectuate dozări ale neurohormonilor, inclusiv ale ARP şi Ang II. Sub acest tratament 50% din pacienţi au avut un nivel plasmatic crescut al Ang II, condiţie corelată semnificativ cu o morbiditate şi mortalitate mai mare [116]. Pacienţii cu Ang II crescută au avut un nivel mai mare şi pentru ceilalţi neurohormoni, inclusiv ARP. O observaţie importantă a autorilor

Scanned with OKEN Scanner

este că pacienții tratați și cu betablocante au avut nivele de ARP și de Ang II mai mici. Pe baza datelor oferite de acest studiu ca și a altor observații, persistența unor nivele crescute ale Ang II sub IECA pot fi explicate prin următoarele mecanisme:

– Creșterea nivelului Ang II pe calea non-ECA printr-o producție mai mare de renină și de Ang I ca urmare a reducerii efectului „feedback" al Ang II generată pe calea ECA. În favoarea acestei ipoteze pledează faptul că utilizarea betablocantelor, care au efect supresiv asupra producției de renină (figura 6.9.), s-a asociat în studiul lui Roig și colaboratorii cu nivele normale ale Ang II. Observațiile lui Urata și colaboratorii [117] efectuate și la om arată că în IC Ang II este produsă de miocard mai ales pe calea non-ECA, neinfluențată de terapia cu IECA. Aceste date ar constitui argumente pentru o eficiență mai mare a ARA în antagonizarea SRA în IC.

– Scăderea DC asociată cu valori joase ale TA constituie un stimul puternic pentru producția de Ang II, stimul care depășește efectele supresive ale IECA administrate adesea în doze mici la această categorie de pacienți.

La pacienții la care efectul supresiv asupra SRA al IECA este redus, ARA ar constitui teoretic o alternativă terapeutică cu efecte mai bune.

6.1.3.10. ANTAGONIȘTII RECEPTORILOR ANGIOTENSINEI II ÎN IC

În cercetări experimentale au fost identificați mai mulți receptori ai Ang II, din care la om receptorii AT_1 și AT_2 par să aibă relevanță clinică. Efectele demonstrate ale Ang II sunt produse prin receptorii AT_1, în timp ce receptorii AT_2 au efecte antagoniste, cu rezultat un echilibru în activitatea Ang II în condiții normale (tabelul 6.4.). În IC activarea SRA face ca efectele asupra receptorilor AT_1 să predomine, cu rezultat consecințele amintite în paragrafele anterioare. Antagonizarea SRA cu ARA diferă de cea obținută cu IECA prin faptul că ARA blochează și efectele Ang II produse pe calea non-ECA și nu intervine asupra nivelului bradikininei care fiind inactivată de ECA, este crescută de IECA [37, 38] (figura 6.9.).

Teoretic, ARA ar trebui să aibă un efect mai mare de antagonizare a Ang II decât IECA și absența efectelor creșterii activității bradikininei. Mai mult, adminstrarea ARA produce o creștere a nivelului Ang II, ale cărei efecte pe receptorii AT_1 sunt blocate dar cele pe AT_2 fiind păstrate, acțiunea finală ar fi o antagonizare doar a efectelor defavorabile ale Ang II (tabelul 6.4.). Cercetările care au dus la introducerea în terapie a ARA au fost experimentale, iar efectele ARA amintite mai sus s-a presupus că vor fi confirmate în studii clinice. Așa s-a și întâmplat cu efectele asupra bradikininei, responsabile de tusea rebelă observată sub IECA, incidența acestui efect advers fiind sub ARA similar cu placebo [118]. Inițial ARA au fost utilzați în HA, unde eficiența lor a fost similară cu cea a IECA, dar cu

Scanned with OKEN Scanner

toleranță mai bună. În IC studii clinice mici care au avut ca obiectiv parametrii clinici și hemodinamici au dat rezultate favorabile. Primul studiu clinic randomizat dublu orb mare care a avut ca obiectiv evaluarea toleranței losartanului (primul ARA comercial apărut pe piață) în comparație cu captoprilul la 722 de pacienți vârstnici (>65 ani) cu IC a fost trialul ELITE [118]. Rezultatele trialului au confirmat toleranța mai bună a losartanului în ce privește tusea, un efect similar cu cel al captoprilului asupra funcției renale, dar și un efect neașteptat de reducere semnificativă a mortalității la pacienții tratați cu losartan. Acest rezultat care ar demonstra superioritatea ARA față de IECA în IC a fost interpretat cu prudență deoarece în obiectivele principale ale trialului nu a intrat efectul asupra mortalității. Ca urmare s-a organizat al doilea trial, ELITE II, care pentru o siguranță statistică mai mare, a inclus un număr mult mai mare de pacienți (3152) randomizați tot dublu orb, la losartan și la captopril. Rezultatele acestui trial, publicate recent [119], au confirmat toleranța mai bună a losartanului, întreruperile de tratament pentru efecte adverse fiind semnificativ mai rare sub losartan decât sub captopril (9,7% versus 14,7%). Mortalitatea totală, cardiovasculară, morțile subite și reinternările pentru IC au fost ceva mai mari sub losartan decât sub captopril, diferențele fiind însă nesemnicative. Concluzia trialului a fost că losartanul nu are efecte superioare IECA în IC, ci poate similare, dar are avantajul unei toleranțe mai bune. Un alt trial, cu candesartan (RESOLVD), a dat rezultate asemănătoare [citat de 121].

Diferențele dintre diversele preparate de ARA, aspect care va fi amintit la capitolul referitor la SRA în HA, au părut că favorizează losartanul după primul studiu ELITE. Trialul ELITE II, neconfirmând rezultatele acestui trial, se apreciază că în prezent nu există date după care anumite preparate de ARA ar avea efecte mai bune în IC.

Nu există o explicație clară pentru neconfirmarea unor efecte superioare IECA ale ARA în IC. Este posibil ca absența efectului asupra bradikininei al ARA să reducă eficiența lor în IC. Rolul protectiv cardiovascular al bradikininei, inclusiv în IC, fiind susținut de date clinice și experimentale [93], este posibil ca asocierea IECA cu ARA, în care activitatea crescută a bradikininei de către IECA este menținută, să fie urmată de rezultate clinice favorabile. Testarea acestei ipoteze se face în prezent în două trialuri cu candesartan și valsartan, care sunt în derulare (CHARM și respectiv VAL – HeFT). Până la publicarea rezultatelor acestor studii, care sunt așteptate în anii 2001–2002, IECA rămân medicația de bază în IC. ARA, care au și un preț mult mai mare, sunt în prezent indicați ca alternativă la IECA doar la pacienții care nu tolerează IECA.

Utilitatea clinică a asocierii IECA – ARA nu este în prezent demonstrată, dar ea poate fi încercată pe baza considerentelor teoretice menționate mai sus, la pacienții cu forme severe de IC și la care răspunsul la IECA este nesatisfăcător.

Scanned with OKEN Scanner

6.1.3.11. ANTAGONIŞTII ALDOSTERONULUI ÎN TERAPIA IC

Antagoniştii aldosteronului sunt spironolactona, canrenoatul de potasiu (metabolitul activ al spironolactonei) şi eplerenona, un preparat sintetic nou cu efecte asemănătoare spironolactonei, dar fără efectele hormonale sexuale ale acesteia şi care este în curs de cercetare în clinică.

Spironolactona, un preparat sintetic care antagonizează efectele aldosteronului prin fixare competitivă pe receptorii specifici, a fost utilizată încă din anii '60 [43]. Preparatul, a cărui acţiune a fost cosiderată exclusiv pe receptorii specifici localizaţi în segmentele distale ale nefronului, are un efect diuretic slab, dar potenţează acţiunea diureticelor de ansă şi produce economisire de potasiu. Ca urmare, spironolactona în doze mari, de 75–100 mg/zi, a fost utilizată cu succes în IC severe şi cu retenţie hidrosalină rezistentă la saluretice şi pentru prevenirea sau corectarea hipopotasemiei indusă de o terapie diuretică viguroasă. După introducerea în tratamentul IC a IECA în anii '80–'90 utilizarea spironolactonei s-a redus conside-rabil deoarece practicienii s-au bazat pe 3 principii, care sunt rezumate în tabelul 6.11.

Tabelul 6.11. Conceptele clasice şi actuale asupra rolului aldosteronului şi al antagonizării lui în IC [reprodus cu permisiune]

Conceptul clasic	Conceptul actual
1. - HiperAldo secundar apare doar în forme avansate de IC - Antagonizarea Aldo cu spironolactona este ocazional benefică (potenţarea diurezei şi economisire de K^+)	1. - Intervenţia Aldo este precoce şi are rol în remodelarea cardiacă şi vasculară, pe lângă alte efecte defavorabile (fig.1) - Antagonizarea precoce a Aldo este foarte probabil benefică; acest efect apare la doze mici, fără acţiune diuretică
2. - IECA produc şi supresia producţiei de Aldo şi au efect protectiv pentru efectele defavorabile ale Aldo	2. - IECA au efect supresiv redus asupra Aldo, mai ales la doze mici şi la efort - Fenomen de scăpare a supresiei Aldo sub IECA şi ARA - IECA oferă protecţie redusă pentru efectele defavorabile ale Aldo
3. - Asocierea IECA-spironolactonă este inutilă şi periculoasă (risc de hiperpotasemie) - Asociere nerecomandată	3. - Asocierea IECA-spironolactonă în doze $\leq$ 50 mg/zi este eficientă în IC şi are risc redus de hiperpotasemie

Conform acestor principii, intervenţia aldosteronului în IC este tardivă, iar antagonizarea efectelor acestui hormon este necesară doar în forme rezistente de retenţie hidrică; IECA producând o supresie a Ang II

Scanned with OKEN Scanner

care este stimulul principal al producției de aldosteron, utilizarea spironolactonei devine astfel inutilă, iar asocierea IECA – spironolactonă este periculoasă și nerecomandabilă deoarce produce hiperpotasemie.

Cercetările experimentale și clinice recente au arătat însă că aceste 3 principii sunt greșite, iar utilizarea spironolactonei și eventual a eplerenonei în IC trebuie reconsiderată [122]. Argumentele care contrazic aceste principii sunt următoarele:

Aldosteronul intervine probabil precoce și are o acțiune complexă în producerea și progresia IC, iar antagonizarea acestui hormon are un efect benefic. Mecanismele de acțiune ale aldosteronului în IC au fost amintite în paragrafele anterioare și sunt rezumate în figura 6.5. Pe lângă efectul binecunoscut de producere a retenției hidrice, aldosteronul are rol în remodelarea miocardului și a vaselor, facilitează apariția aritmiilor și a ischemiei [49, 51]. Spironolactona s-a dovedit capabilă să antagonizeze aceste efecte;

– Efectele „antifibrotice" miocardice dovedite experimental la doze mici sunt probabile și la om unde rezultatele trialului RALES în care s-au utilizat tot doze mici de spironolactonă [52] pot fi explicate și prin încetinirea remodelării miocardice;

– Efectul de reducere a riscului de aritmii maligne este produs prin mecanisme multiple, care antagonizează o serie de acțiuni proaritmice ale aldosteronului: depleția de potasiu și de magneziu din lichidul extracelular, depleția de potasiu din miocite, reducerea fixării și a inactivării NE în miocite [51] și reducerea barorecepției și a activității parasimpatice. În favoarea acestor efecte există argumente clinice și experimentale. Astfel, Arora și Somani [citați de 49] au arătat că administrarea de aldosteron în IMA experimental are un efect aritmogen mai mare decât epinefrina. La om MacFadyen și colab. au demonstrat că spironolactona crește variabilitatea R – R la pacienții cu IC, efect corelat cu reducerea activității ectopice ventriculare [49].

Efectul favorizant al ischemiei miocardice de către aldosteron este sugerat doar de studii experimentale. Acest efect s-ar produce indirect prin acțiunea aldosteronului de creștere a numărului receptorilor Ang II [50], prin disfuncție endotelială și prin acțiune asupra PAI-1 [34], care ar favoriza vasoconstricția și respectiv trombozele în microcirculația coronariană. Efectele aldosteronului în IC sunt rezumate în figura 6.5.

Intervenția acestor mecanisme, ca și eficiența antagonizării lor par speculative. Rezultatele trialului RALES în care morțile subite s-au redus cu 29% sub spironolactonă în comparație cu placebo la pacienți cu IC severă constituie un argument clinic serios în favoarea unui efect de reducere a riscului de aritmii ventriculare maligne și de accidente coronariene acute

Scanned with OKEN Scanner

capabile să producă moarte subită. Acest efect se pare că este aditiv cu cel al IECA şi al betablocantelor care au fost administrate atât la pacienţii trataţi cu spironolactona cât şi la cei sub placebo (peste 90% pentru IECA şi 10% pentru betablocante) [52]. O metaanaliză efectuată recent de Domanski şi colaboratorii [4] la peste 15 000 de pacienţi trataţi cu IECA după IMA a aratat o reducere cu 20% a morţilor subite iar în trialul CIBIS II [100] şi MERIT – HF [123] cu betablocante, morţile subite s-au redus de asemenea semnificativ. Un alt argument îl constituie efectul spironolactonei de reducere semnificativă a mortalităţii la subgrupul de 70% din pacienţii cu IC ischemică trataţi cu digitală în trialul RALES.

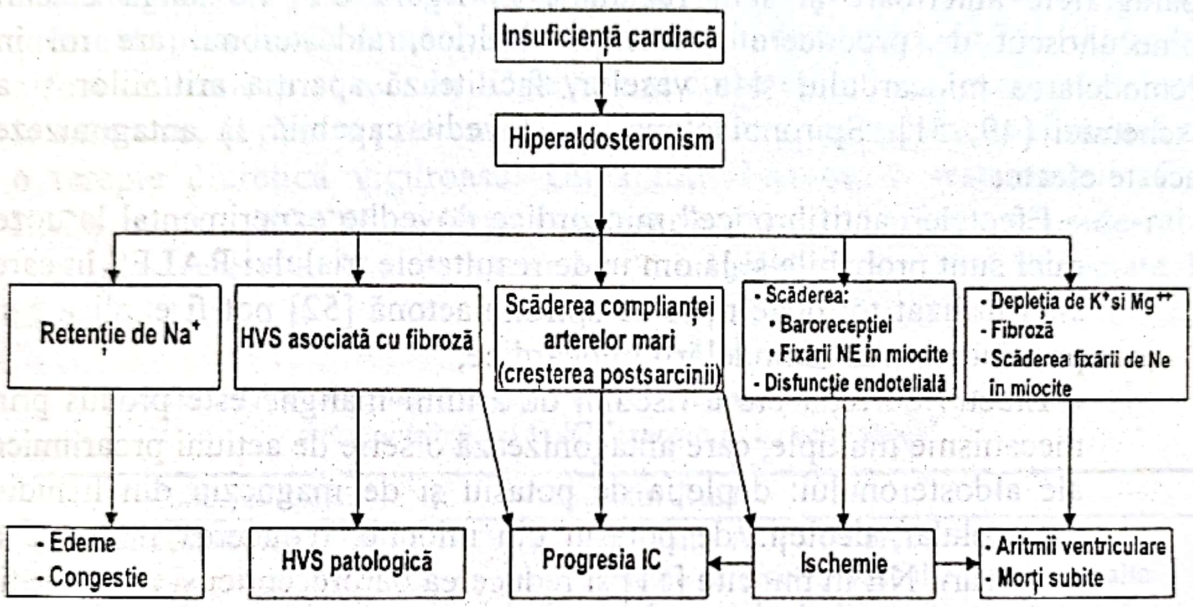


Figura 6.5. Efectele defavorabile ale aldosteronului în IC [reproducere cu permisiune, 189].

În trialul DIG, la pacienţii trataţi cu digoxin mortalitatea prin agravarea IC s-a redus marginal semnificativ, iar morţile aritmice au crescut nesemnificativ. Totuşi, aceste două tendinţe opuse au făcut ca efectul digoxinei asupra mortalităţii globale să fie neutru [124]. Compararea rezultatelor din studiul RALES şi DIG sugerează că spironolactona antagonizează efectele digitalei de depleţie de potasiu din miocite, efecte similare cu cele ale aldosteronului şi reduce astfel riscul de aritmii. Aceste observaţii arată că spironolactona ar putea creşte efectul digitalei asupra supravieţuirii şi ar reduce efectele de favorizare a aritmiilor ventriculare.

IECA nu produc o antagonizare de durată a aldosteronului în IC. Administrarea IECA în doze optime produce doar o supresie tranzitorie a producţiei de aldosteron, după care apare aşa numitul fenomen de „scăpare", nivelul aldosteronului plasmatic revenind la valorile iniţiale. Acest fenomen

Scanned with OKEN Scanner

a fost descris prima dată de Staessen şi colaboratorii [125] la pacienţi hipertensivi trataţi cu doze mari de captopril (300 mg/zi) şi a fost găsit ulterior şi în IC de Cleland şi colaboratorii [126], de Struthers [127] şi de alţii.

Tabelul 6.12. Factorii care stimulează producţia de aldosteron, cu rol probabil în IC [reprodus cu permisiune, 189]

Factori majori

- Angiotensina II
- Nivelul potasiului seric
- Corticotropina

Factori minori

- Endoteline
- Vasopresina
- Catecolamine
- Prostaglandine
- Hormonul stimulator al melanocitelor

Nivele crescute ale aldosteronului plasmatic asociate cu efectele defavorabile ale acestuia au fost observate la pacienţi cu IC sub tratament cu IECA în studiile clinice amintite mai sus ale lui MacFadyen şi colaboratorii [49], Duprez şi colaboratorii şi Ferrari [24]. Pe baza observaţiilor disponibile în prezent se apreciază că efectul supresiv de durată al IECA este modest, de aproximativ 20% şi inconstant. Mai mult, dozele mici de IECA, echivalente cu mai puţin de 75 mg/zi captopril sau 15 mg/zi enalapril, doze utilizate frecvent la pacienţi cu IC severe trataţi viguros cu diuretice şi cu tendinţă la TA joasă, au un efect supresiv şi mai redus asupra aldosteronului, aşa cum rezultă din observaţiile lui Dahlström şi Karlson [128] şi ale lui V. Vliet şi colaboratorii [129]. La astfel de pacienţi poate apărea chiar hipopotasemie, fapt observat şi la cazuistica noastră, iar asocierea spironolactonei s-a dovedit eficientă clinic şi a prevenit depleţia de potasiu [130].

„Scăparea" aldosteronului de supresia produsă de IECA este explicată de faptul că producţia de aldosteron este stimulată şi de alţi factori decât Ang II [131] (tabelul 6.12.) şi de existenţa unui fenomen de scăpare şi pentru supresia generării de Ang II sub IECA. În IC producerea de Ang II miocardică se face mai ales pe calea non-ECA [117]. Teoretic, ARA ar trebui în acest caz să aibă un efect supresiv mai mare asupra aldosteronului. Această ipoteză nu a fost însă confirmată de Yusuf în trialul RESOLVD cu candesartan [120]. Rezultatele acestor observaţii permit următoarele concluzii:

Scanned with OKEN Scanner

– Supresia aldosteronului de către IECA şi probabil şi de ARA este incompletă şi tranzitorie;
– Efectele defavorabile ale aldosteronului în IC se menţin şi sub IECA, mai ales dacă sunt administrate doze mici;
– Antagonizarea directă a aldosteronului prin administrararea de spironolactonă asociată la IECA este în unele condiţii clinice raţională fiziopatologic, iar trialul RALES [52] a arătat că este eficientă clinic şi bine tolerată.
– Asocierea IECA–spironolactonă este bine tolerată de majoritatea pacienţilor cu IC. În manualele de circulaţie mare [132, 133] şi în instrucţiunile cuprinse în ambalajele preparatelor de IECA, asocierea spironolactonei cu IECA a fost nerecomandată deoarece ambele preparate reduc eliminarea renală de potasiu şi ar putea produce hiperpotasemii periculoase. Experienţa practică a arătat însă că la pacienţi cu IC severă şi cu retenţie hidrică importantă asocierea de IECA şi diuretice de ansă nu a permis controlarea retenţiei hidrice, iar obţinerea şi menţinerea greutăţii uscate s-a putut realiza doar după asocierea spironolactonei [128-130]. În primul trial mare în care s-a utilizat asocierea de IECA cu spironolactonă la pacienţi cu IC clasa NYHA IV (CONSENSUS, 1987) administrarea unor doze relativ mari de spironolactonă (doze medii: 80 mg/zi) sau suplimentarea orală de potasiu s-au asociat cu hiperpotasemie doar la 19% din cazuri [80]. Această anomalie nu a avut consecinţe clinice importante şi a fost reversibilă după întreruperea administrării spironolactonei. Toleranţa bună a asocierii IECA–spironolactonă a fost confirmată ulterior în studii deschise mai mici [128, 129], inclusiv în studii proprii [130]. Ca urmare a acestor observaţii cu implicaţii practice importante s-a organizat primul studiu RALES care a avut obiectivul de a cerceta toleranţa asocierii la IECA a diverselor doze de spironolactonă sau de placebo la 214 pacienţi cu IC clasa III şi IV. Rezultatele studiului au arătat că doze de spironolactonă între 12,5 şi 25 mg/zi au produs hiperpotasemie la doar 2% din cei trataţi, diferenţa faţă de placebo fiind nesemnificativă [134]. Concluzia primului studiu RALES şi a observaţiilor anterioare a fost că spironolactona în doze egale sau sub 50 mg/zi asociate dozelor uzuale de IECA şi de diuretice de ansă sunt bine tolerate şi au risc redus de hiperpotasemie la pacienţi cu funcţie renală normală sau puţin alterată. Ca urmare nu trebuie să existe reţinere în utilizarea acestei asocieri la pacienţi la care ar putea fi benefică, dar ea impune un control mai frecvent al potasiului şi al creatininei serice.

Scanned with OKEN Scanner

Experienţa acumulată după 30 de ani de utilizare a spironolactonei în IC şi rezultatele unor studii experimentale şi clinice recente arată că spironolactona este utilă şi eficientă în două condiţii clinice diferite şi la dozaj diferit:

– La pacienţi cu retenţie hidrică mare (+10–20 kg) rezistentă sau greu reductibilă doar cu diuretice de ansă, hiperaldosteronismul secundar este aproape constant, mai ales în prezenţa cirozei cardiace. Obţinerea greutăţii uscate cu risc redus de depleţie periculoasă de potasiu şi de magneziu se poate realiza prin asocierea la saluretice a spironolactonei în doze relativ mari, de 75-150 mg/zi. La astfel de pacienţi care sunt frecvent întâlniţi în România, asocierea IECA în perioada de depleţie hidrică este adesea netolerată, IECA putând produce hipotensiune simptomatică. Dacă IECA sunt totuşi administraţi, dozele utilizate sunt suboptime, iar riscul de hiperpotasemie este redus. După obţinerea greutăţii uscate, spironolactona 25-50 mg/zi asociată la o doză de întreţinere de diuretice de ansă, permite titrarea IECA spre dozele optime şi realizarea unei asocieri medicamentoase eficiente şi de regulă bine tolerată.

– La pacienţi cu IC severă, clasa NYHA III – IV, fără retenţie hidrică şi stabilizaţi cu diuretice, IECA, la care se asociază adesea digoxin şi uneori betablocante, indicaţiile actuale ale spironolactonei se bazează pe rezultatele studiilor experimentale şi clinice amintite mai sus şi mai ales pe datele trialului RALES finalizat recent [52]. În acest trial au fost recrutaţi peste 1600 de pacienţi cu IC clasa NYHA III şi IV trataţi cu toţii cu diuretice de ansă, peste 90% cu IECA, 72-75% cu digitală şi 10-11% cu betablocante. La 822 de pacienţi s-a asociat spironolactonă, 25-50 mg (doza medie: 26 mg), restul de 841 de cazuri primind placebo după un model randomizat, dublu orb. Comitetul de supraveghere a întrerupt prematur trialul din cauza diferenţelor semnificativ mai favorabile ale parametrilor urmăriţi la pacienţii trataţi cu spironolactonă: reducerea mortalităţii globale cu 30%, a mortalităţii cardiovasculare cu 31%, a morţilor subite cu 29% şi a spitalizărilor pentru agravarea IC cu 35%. Asocierea spironolactonei la IECA în dozele utilizate a fost bine tolerată, hiperpotasemia fiind notată la 2% sub spironolactonă şi la 1% sub placebo, diferenţa fiind nesemnificativă statistic. Ginecomastia şi durerile de sân au impus mai frecvent întreruperea tratamentului la pacienţii trataţi cu spironolactonă (10% versus 1%), diferenţa fiind semnificativă.

Rezultatele trialului RALES au permis următoarele concluzii cu implicaţii practice importante:

Scanned with OKEN Scanner

– Spironolactona reduce mortalitatea şi morbiditatea legate de IC la pacienţii cu IC severă trataţi cu IECA. Acest efect este aditiv cu cel al IECA deoarece IECA au redus mortalitatea la categorii asemănătoare de pacienţi în trialurile CONSENSUS [80], VHeFT II [3] şi SOLVD – Treatment [81];
– Se confirmă toleranţa bună a dozelor mici de spironolactonă asociate cu IECA şi riscul redus de hiperpotasemie. Efectele sexuale care pot apare la bărbaţi şi la doze mici de spironolactonă trebuiesc acceptate la această categorie de pacienţi cu prognostic rezervat;
– Efectele favorabile ale spironolactonei fiind obţinute cu doze mici, care nu au avut acţiune diuretică sau asupra TA, confirmă studiile experimentale [47] şi clinice [53] care au arătat că efectele extrarenale ale spironolactonei se obţin cu doze mult mai mici decât cele necesare potenţării efectelor salureticelor în IC severe.

Datele experimentale disponibile în prezent sugerează că antagonizarea precoce a aldosteronului în cardiopatia ischemică, hipertensivă şi cardiomiopatiile dilatative idiopatice ar preveni sau reduce progresia remodelării VS. Acest efect protectiv ar putea fi similar, aditiv sau chiar superior IECA. Testarea acestei ipoteze nu s-a facut şi nici nu se va face în clinică din cauza efectelor sexuale ale spironolactonei, efecte care nu sunt acceptabile la pacienţi minim simptomatici. Disponibilitatea unui antagonist al aldosteronului cu efecte sexuale reduse sau absente ar lărgi indicaţiile acestei clase de medicamente cu rezultate clinice probabil benefice. Astfel de preparate ar putea fi canrenoatul de potasiu şi eplerenona.

Canrenona (canrenoatul de potasiu) este un metabolit activ al spironolactonei care faţă de aceasta are două avantaje: o acţiune rapidă şi se pare efecte sexuale mai reduse. Forma injectabilă intravenos a preparatului a fost utilizată încă din anii '70, iar după experienţa noastră ea s-a dovedit a avea efect diuretic remarcabil şi fără risc de depleţie de potasiu la pacienţi cu IC severă, cu retenţie hidrică importantă şi cu toxicitate digitalică [135].

După introducerea IECA şi reducerea utilizării digitalei în doze mari în IC, interesul pentru acest preparat a scăzut, el nefiind nici aprobat în SUA. În anii '80 a apărut canrenoat de potasiu cu administrare orală care în studii mici a arătat că are proprietăţi similare spironolactonei şi efecte sexuale mai reduse la pacienţi cu HA [136]. În IC există doar un studiu mic al lui Marco şi colaboratorii şi care a arătat că la 9 din 11 pacienţi cu ginecomastie sub spironolactonă înlocuirea acesteia cu canrenona a dus la dispariţia acestei tulburări [137].

Scanned with OKEN Scanner

În prezent există o tendința de promovare a acestui preparat în IC dar în absența rezultatelor unor studii mari utilizarea lui în viitor este incertă.

Eplerenona este un antagonist al aldosteronului cu efecte hormonale sexuale minime. Este un steroid sintetic, similar spironolactonei, la care o modificare în structura chimică (prezența grupării 9, 11 epoxid) i-a redus afinitatea pentru receptorii de progesteron şi de testosteron sub 1% şi respectiv 0,1% din cea a spironolactonei, cu menținerea afinității pentru receptorii de aldosteron [138]. După numeroase studii la animal care au demonstrat inocuitatea şi eficiența eplerenonei în antagonizarea efectelor aldosteronului, primele studii clinice la serii relativ mici de pacienți cu HA şi IC au confirmat calitățile acestui preparat. Doze de eplerenonă începând de la 50 mg/zi au avut efecte antihipertensive iar efectele sexuale au fost similare cu cele notate sub placebo [139]. În IC, un studiu randomizat controlat cu placebo şi cu spironolactonă 25 mg/zi versus diverse doze de eplerenonă începând de la 25 mg/zi, au arătat că sub 50 mg eplerenonă antagonizarea efectelor aldosteronului este mai mare decât sub 25 mg spironolactonă în timp ce efectele sexuale au fost semnificativ mai reduse [140]. Hiperpotasemia (>6 mEq/l) a fost notată doar la 12% din pacienții tratați cu 100 mg eplerenonă/zi.

Rezultatele acestor studii clinice preliminare sunt foarte încurajatoare şi deschid perspectiva unui nou progres în prevenirea sau reducerea remodelării cardiace şi în reducerea morbidității şi mortalității prin IC. Testarea în clinică a acestei posibilități se face în prezent în trialuri mari, ale căror rezultate sunt aşteptate în următorii 2–3 ani.

6.2. SISTEMUL RENINĂ-ANGIOTENSINĂ ÎN HIPERTENSIUNEA ARTERIALĂ

Pentru clinicieni cunoaşterea rolului SRA în HA are implicații în evaluarea şi în terapia HA cu rezultat un mod de îngrijire mai diferențiat şi mai eficient a pacienților hipertensivi.

Odată cu creşterea accesului la determinarea ARP şi a Ang II prin radioimunodozare s-a sperat că intervenția SRA în HA la om să poată fi clarificată. Spre decepția clinicienilor, atât în HA esențiale, cât şi în cele secundare, inclusiv renovasculare, s-a găsit o mare varietate de valori de Ang II şi ARP: „normale", scăzute şi crescute. Acest fapt a pus la îndoială rolul SRA în HA. Un progres mare a fost realizat de Laragh şi colaboratorii (1973) care, pornind de la faptul că SRA este implicat în homeostazia volumului şi a sodiului, a interpretat valorile ARP nu ca valori absolute ci în funcție de natriureză (figura 6.6.).

Scanned with OKEN Scanner

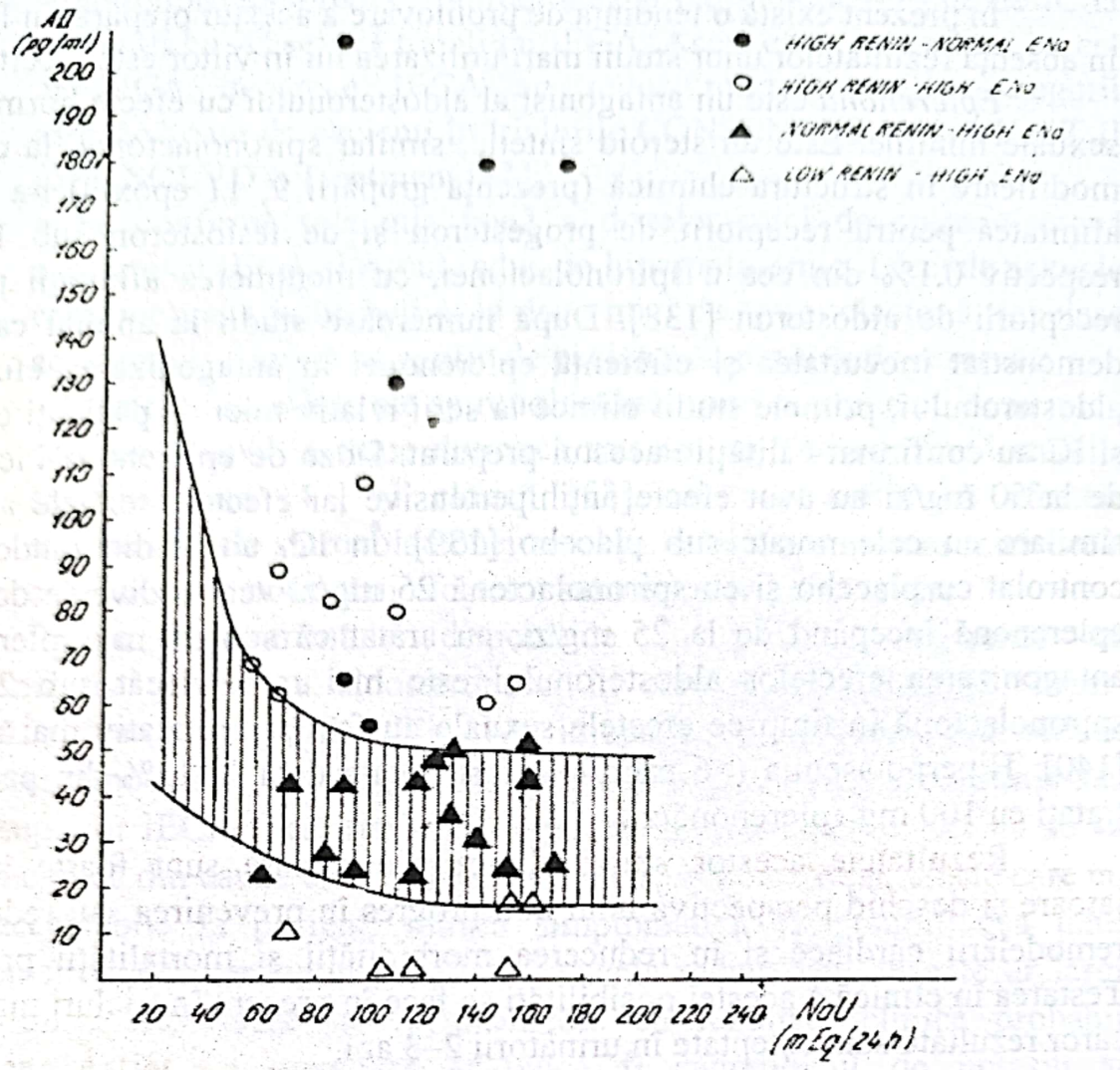


Figura 6.6. Relația dintre A II circulantă, natriureză şi sodiul de schimb la 35 de pacienți hipertensivi. Aria haşurată a fost obținută din determinări de A II şi natriureză/24 ore la subiecți normotensivi [reproducere cu permisiune după 142].

La pacienții cu aport de sodiu stabil natriureza în 24 ore reflectă aportul zilnic de sodiu. Analiza relației dintre ARP la diverse valori ale natriurezei la subiecți sănătoşi a permis astfel obținerea unei arii între curbele normale ale acestei relații. Utilizarea acestei relații la pacienții hipertensivi a permis identificarea pacienților hipertensivi cu renină normală, crescută şi scăzută [141]. Valabilitatea acestei relații, găsită şi de noi şi prezentată în figura 6.6. [142, 143] îşi menține şi în prezent valoarea, Alderman în 1991 utilizând-o în continuare pentru clasificarea pacienților hipertensivi după profilul reninei. Mai mult, Kaplan apreciază că şi datele din literatură sunt surprinzător de asemănătoare: majoritatea pacienților cu hiperaldosteronism primar au renină scăzută, cei cu HRV şi cu HA maligne renină crescută, iar la cei cu HA esențiale renina este normală [69].

Scanned with OKEN Scanner

Intervenţia SRA în HA poate fi directă sau contributivă, în mod normal SRA sistemic funcţionând ca un mecanism homeostatic de scurtă durată, intervenind la depleţie de volum şi de sodiu. Odată echilibrul restabilit stimularea SRA încetează, sistemul revenind la valorile bazale. O stimulare continuă a SRA care să explice ARP permanent crescută se întâlneşte adesea în HRV şi în hipertensiunile maligne.

6.2.1. EFECTUL DIRECT AL SRA ÎN HA

În HRV scăderea presiunii de perfuzie a rinichiului ischemic este percepută de aparatul juxtaglomerular şi de macula densa ca hipovolemie. Creşterea PA creşte insuficient presiunea de perfuzie, dar tendinţa la retenţie de sodiu este corectată de rinichiul contralateral care este supus la o presiune de perfuzie crescută. Rezultatul este că rinichiul ischemic produce renină în exces, în timp ce rinichiul normal îşi reduce producţia de renină până aproape de zero. Diferenţa mare în producerea reninei de către cei doi rinichi are valoare diagnostică şi ea poate explica faptul că ARP este crescută la doar 57% din pacienţii cu HRV prin stenoză semnificativă de arteră renală [69]. Date experimentale arată că la rinichiul cu artera renală clampată, producţia de renină iniţial crescută revine la normal deşi în rinichiul contralateral ea rămâne deprimată. Acest fapt se poate explica prin efectul supresiv al creşterii PA şi a presiunii de perfuzie asupra producerii de renină şi contribuie probabil la valorile normale ale ARP în HRV. Rolul presiunii de perfuzie crescute prin Ang II în asigurarea menţinerii funcţiei rinichiului ischemic este documentat şi de efectele IECA în stenoza bilaterală de arteră renală. În astfel de cazuri se produce hipotensiune şi insuficienţă renală acută, răspuns care arată dependenţa funcţiei renale de Ang II. În unele cazuri de HRV se asociază şi hiperaldosteronismul secundar tradus mai ales prin hipopotasemie.

În HA malignă valori mari ale ARP şi aldosteronului sunt frecvent întâlnite [Kawazoe şi colaboratorii, citaţi de 69], ca şi hipopotasemia. Cauza activării SRAA în HA malignă este afectarea severă a arteriolelor renale cunoscută clasic ca „arterionecroză" şi care produce ischemie intrarenală cu atrofie glomerulară rapid progresivă. Mecanismul primar ar fi leziunea arterelor renale mici produsă direct de valorile foarte mari ale PA. Această explicaţie este probabil incompletă deoarece există o suprapunere a valorilor PA din HA severe „benigne" cu cele din HA malignă [Kinkaid-Smith citat de 69] iar Dzau şi colaboratorii au observat că în HA maligne experimentale prin stenoză de arteră renală, activarea SRA a precedat instalarea caracterului malign al HA [citaţi de 69]. Mai mult, se apreciază că 20-35% din HA maligne la om sunt asociate cu stenozele de arteră renală.

Scanned with OKEN Scanner

Toate aceste observaţii clinice şi experimentale constituie argumente serioase pentru rolul important al SRA în HA malignă alături de alţi factori cu rol mai puţin clar ca endoteline, anticorpi antireceptori Ang II etc. [69]. HA malignă se asociază cu natriureză crescută datorită PA mari, tendinţă la hipovolemie şi vasoconstricţie. Acest profil fiziopatologic explică eficienţa mai ales a medicaţiei care antagonizează SRA şi a celei vasodilatatoare directe [69].

6.2.2. EFECTUL CONTRIBUTIV AL SRA ÎN HA ESENŢIALĂ.

În absenţa unor condiţii care stimulează permanent SRA în HA, aşa cum se întâmplă în HRV şi în HA malignă, creşterea „per se" a PA ar trebui să producă o supresie a SRA în HAE. Totuşi, marea majoritate a pacienţilor cu HAE nu au renină joasă, ci normală, iar o minoritate chiar crescută. Acest profil reninic este „necorespunzător" fiziopatologic şi el este explicat prin 3 mecanisme:

– heterogenitatea nefronilor cu o subpopulaţie de nefroni ischemici;
– un defect intrinsec constând din absenţa deprimării SRA prin creşterea presiunii de perfuzie renale (subiecţi „nonmodulatori");
– creşterea activităţii simpatice în HAE cu stimularea şi a SRA.

Heterogenitatea nefronilor cu existenţa unei subpopulaţii ischemice ar fi rezultatul vasoconstricţiei sau mai probabil al procesului de arteriolo-scleroză renală. Acest proces fiind neuniform va duce la coexistenţa unor glomeruli ischemici cu glomeruli hiperperfuzaţi. Nefronii din prima categorie vor produce un exces de renină în timp ce la ceilalţi producţia de renină va fi deprimată, rezultatul final în sângele periferic fiind renina normală [Sealey şi colab. citaţi de 69].

Williams şi Holenberg au arătat că jumătate din pacienţii cu HA şi cu renină normală sau crescută au un răspuns anormal al SRA şi al suprarenalei la aportul de sodiu. La aport de sodiu scăzut Ang II şi aldosteronul cresc, facilitând economisirea acestui ion; la aport crescut de sodiu efectul este invers. Utilizând perfuzii de Ang II în condiţii de bilanţ sodic diferit şi măsurând fluxul sanguin renal aceşti autori au găsit că la 50% din hipertensivii cu renină normală sau crescută nu se produce o creştere a aldosteronului în condiţii de restricţie de sodiu, iar fluxul sanguin renal nu creşte în condiţiile unui aport crescut de sodiu [145]. Aceste forme de răspuns sugerează că „nonmodulatorii" au o activitate relativ fixă a Ang II locală, iar acest răspuns anormal poate fi corectat cu IECA. Alte studii au confirmat existenţa unor diferenţe în ce priveşte prevalenţa nonmodulatorilor după arii geografice şi sex, această anomalie fiind mai rară la femei.

Scanned with OKEN Scanner

Conform acestui concept o activitate relativ fixă şi neadaptată la aportul de sodiu explică HAE cu renină „normală" şi răspunsul favorabil la IECA. O altă interpretare a rolului SRA şi a sodiului în HAE aparţine lui Laragh. Acest autor considera că se pot identifica două forme fiziopatologice de HAE: o formă în care domină vasoconstricţia indusă de Ang II crescută şi o formă dependentă de volum cu renină joasă şi cu exces de volum [141]. În HA cu renină normală cele două mecanisme ar interveni în proporţii variate. Deşi acest concept nu a fost confirmat în totalitate, Kaplan consideră că studiile negative bazate pe măsuratori plasmatice ale ARP nu pot exclude intervenţia SRA tisular [69], iar răspunsul diferit la IECA, la diuretice şi la asocierea celor două antihipertensive, combinaţie eficientă la majoritatea pacienţilor cu HAE, pledează în favoarea conceptului lui Laragh [146].

Producerea unui exces a Ang II sub acţiunea unei stimulări simpatice crescute în HAE ar fi a treia posibilitate de a explica ARP „normală", dar necorespunzătoare fiziologic. Stimularea SRA prin creşterea activităţii simpatice este bine cunoscută [69]. Acest efect are loc, cel puţin în parte, prin betareceptori. Efectul de scădere al ARP sub betablocante este un efect de asemenea cunoscut şi până la apariţia IECA, betablocantele au fost singura medicaţie „antireninică" utilizată în HA [141, 147, 148]. Nu este însă clar în ce măsură şi prin ce mecanisme se produce un exces permanent de stimulare simpatică care să explice atât apariţia cât şi menţinerea HA. Pe de altă parte activarea SRA constituie un stimul pentru activitatea simpatică şi de amplificare a efectului catecolaminelor [69].

Pe baza cunoştinţelor actuale rolul SRA în HA poate fi rezumat aşa cum este prezentat în figura 6.7.

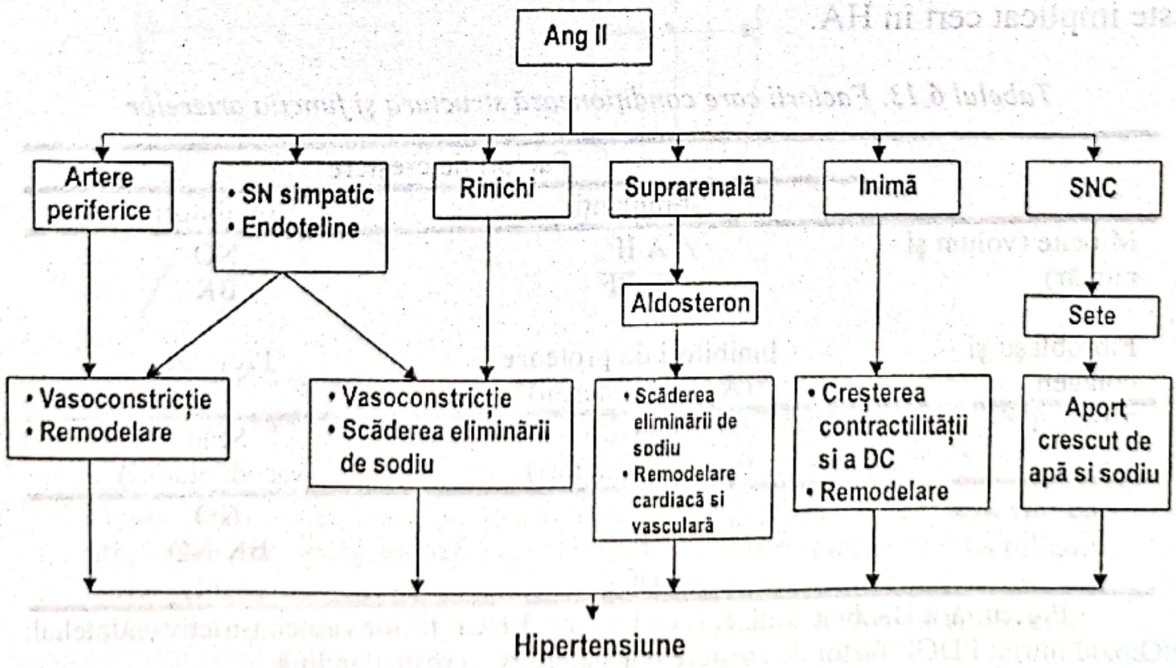


Figura 6.7. Intervenţia SRAA în HA.

Scanned with OKEN Scanner

După cum rezultă din figura 6.7., SRA poate interveni prin mecanisme multiple şi prin interacţiune cu alţi factori în producerea şi menţinerea HA. Aceste efecte pot fi realizate prin SRA sistemic, chiar în condiţiile unei ARP „normale". Datele recente prezentate în alte paragrafe arată că SRA tisular şi aldosteronul au probabil un rol important în remodelarea cardiacă şi a arterelor. Implicaţiile terapeutice ale intervenţiei SRA în HA sunt probate de eficienţa medicamentelor care antagonizează acest sistem, aspect care va fi discutat în alt paragraf.

6.2.3. REMODELAREA ARTERIALĂ ÎN HIPERTENSIUNE.

Valorile PA sunt determinate de 3 factori: debitul sistolic, distensibilitatea arterelor mari de conductanţă şi lumenul arterelor mici care determină rezistenţele periferice. La majoritatea hipertensivilor, distensibilitatea arterelor mari este mai mică, iar rezistenţele periferice sunt mai mari decât la subiecţi normotensivi. Factori hormonali circulanţi în exces cum ar fi catecolamine sau de Ang II pot produce creşteri acute ale PA. Valorile permanent crescute ale PA contribuie însă la modificarea structurii peretelui arterial, proces denumit remodelare.

Structura normală a peretelui arterial este determinată de echilibrul dintre factorii care stimulează şi cei care inhibă creşterea şi proliferarea miocitelor, a fibroblaştilor şi a colagenului. Aceşti factori sunt rezumaţi în tabelul 6.13.

Sursa acestor factori este endoteliul arterial, organ căruia i se atribuie în prezent o funcţie complexă [30, 149, 150, 152, 157]. SRA produs local şi aldosteronul au un rol important în funcţia normală a peretelui arterial şi este implicat cert în HA.

Tabelul 6.13. Factorii care condiţionează structura şi funcţia arterelor

	Factori de creştere	
	Stimulanţi	Inhibitori
Miocite (volum şi număr)	A II PDGF E	NO BK
Fibroblaşti şi colagen	Inhibitori de proteaze (A II, aldosteron)	Proteaze
Tonusul	Cresc (vasoconstrictori)	Scad (vasodilatatori)
	A II E EDCF	NO BK-NO PG I_2

Prescurtări: BK:bradikinină; E:endoteline; EDCF:factor vasoconstrictiv endotelial; NO:oxid nitric; PDGF:factor de creştere plachetar; PG: prostaglandină.

Scanned with OKEN Scanner

Creşterea activităţii Ang II produse local are efect direct de stimulare a hipertrofiei şi proliferării miocitelor, a fibroblaştilor şi o creştere a conţinutului de colagen, pe lângă efectul vasoconstrictor direct şi probabil de favorizare a efectului cartecolaminelor. În plus Ang II ar potenţa şi efectele endotelinelor (figurile 6.2. şi 6.7.).

6.2.3.1. REMODELAREA ARTERELOR MARI DE CONDUCTANŢĂ

Acest tip de artere au în medie un număr redus de miocite şi o matrice bogată compusă din elastină şi colagen. Elastina asigură distensibilitatea vasului şi amortizarea stress-ului sistolic, iar colagenul conferă rezistenţa la distensie a arterei. Raportul normal elastină/colagen determină complianţa arterelor mari, proprietate care întârzie unda reflectată care apare în mod normal după terminarea sistolei (figura 6.8.).

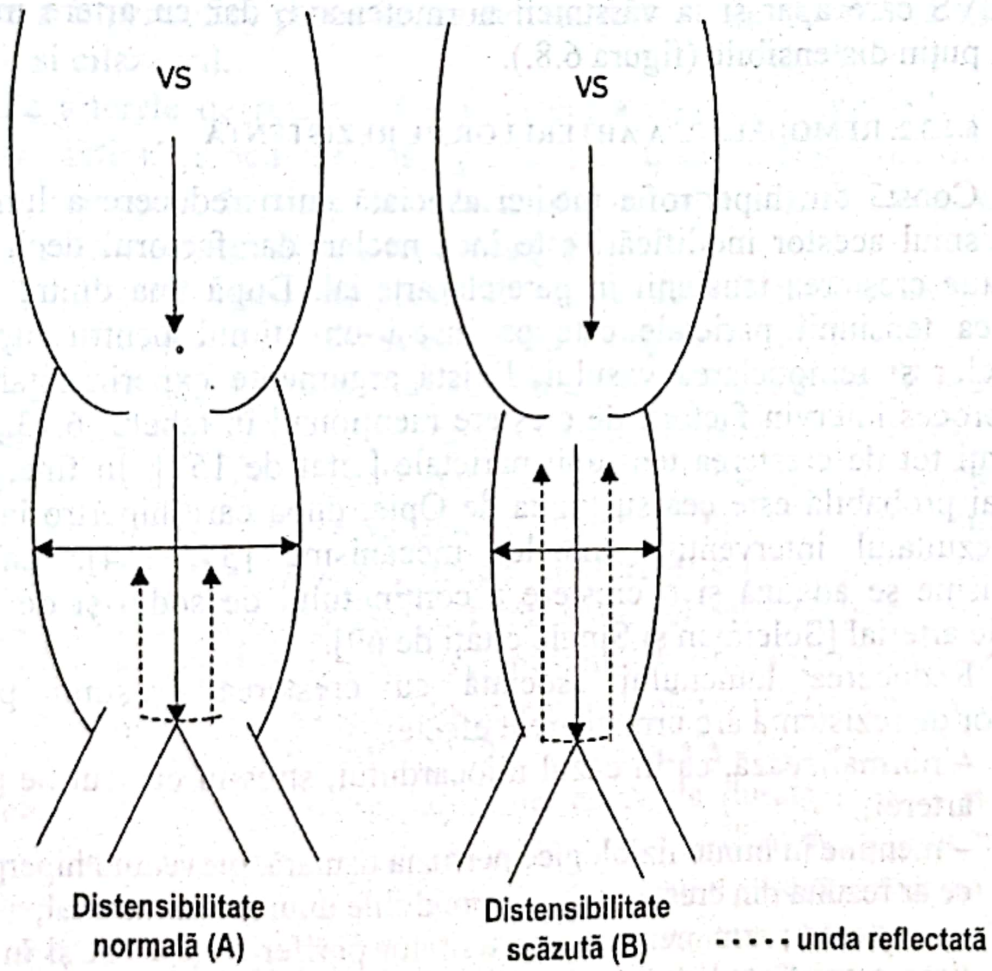


Figura 6.8. A: Distensibilitate aortică normală şi undă de reflexie cu propagare retrogradă redusă în sistolă; B: Efectele reducerii distensibilităţii aortei şi a vaselor elastice: scăderea efectului de amortizare a PA şi propagare retrogradă până în aorta proximală a undei reflectate, având ca rezultat creşterea postsarcinii VS.

Scanned with OKEN Scanner

În HA complianța arterelor mari scade datorită creșterii conținutului de colagen. Cauza alterării raportului elastină/colagen în favoarea colagenului pare să fie creșterea stress-ului parietal produs de însăși creșterea PA și care constituie stimulul pentru creșterea activității SRA local. Rezultatul este o hipertrofie a mediei cu un număr crescut de miocite și un conținut crescut de colagen. Lumenul nu este de regulă modificat, dar raportul lumen/perete, raport care poate fi măsurat prin ultrasonografie, este scăzut [149, 154-156, 160, 162].

Consecința hemodinamică a scăderii complianței vaselor mari este creșterea PA sistolice printr-un mecanism dublu [153-156]:

– reducerea distensibilității și a amortizării creșterii PA în cursul sistolei VS;

– apariția mai precoce a undei reflectate care survine în timpul sistolei și care crește rezistența la golire a VS. Importanța acestui ultim mecanism a fost evidențiată recent și el explică hipertrofiile VS care apar și la vârstnicii normotensivi, dar cu artere mari mai puțin distensibile (figura 6.8.).

6.2.3.2. REMODELAREA ARTERELOR DE REZISTENȚĂ

Constă din hipertrofia mediei asociată cu o reducere a lumenului. Mecanismul acestor modificări este încă neclar, dar factorul declanșant îl constituie creșterea tensiunii în peretele arterial. După una dintre ipoteze, creșterea tensiunii parietale este ea însăși un stimul pentru hipertrofia miocitelor și remodelarea vasului. Există argumente experimentale că în acest proces intervin factorii de creștere menționați în tabelul 6.13., factori stimulați tot de creșterea tensiunii parietale [citat de 157]. În fine, ipoteza cea mai probabilă este cea susținută de Opie, după care hipertrofia mediei este rezultatul intervenției ambelor mecanisme [34, 154]. La aceste mecanisme se adaugă și o creștere a conținutului de sodiu și de apă din peretele arterial [Soleiman și Singh, citați de 69].

Reducerea lumenului asociată cu creșterea grosimii peretelui arterelor de rezistență are următoarele efecte:

– normalizează, ca în cazul miocardului, stres-ul crescut pe peretele arterei;

– menține în limite fiziologice perfuzia tisulară, prevenind hiperperfuzia ce ar rezulta din creșterea PA în condițiile unui lumen normal;

– creșterea permanentă a rezistențelor periferice și a PA și în același timp amplificarea vasoconstricției la stimuli presori normali;

– favorizarea procesului de arteriolosclerozã, care evoluează cu îngroșarea și hialinoza mediei hipertrofiate și în final dispariția lumenului arteriolei. Procesul este lent și izolat, dar mai intens în rinichi și creier, teritorii vasculare în care autoreglarea și vasomotricitatea sunt mai accentuate.

Scanned with OKEN Scanner

Rolul SRA în modificările peretelui arterial este sugerat de cercetări experimentale şi de efectele terapiei cu IECA asupra remodelării arterelor de rezistenţă. Unele din argumentele rezultate din studiile experimentale sunt:

– demonstrarea existenţei componentelor SRA în peretele arterial şi producţia locală de Ang II [34, Okimura şi colaboratorii, citaţi de 157];

– efectul Ang II de stimulare a hipertrofiei miocitare şi a formării de colagen *in vitro* [34];

– stimularea hipertrofiei mediei sub infuzie de Ang II la şobolani *in vivo* [157].

Cercetările privind efectele inhibiţiei SRA din peretele arterial sunt experimentale şi clinice. Studiile experimentale au fost efectuate la şobolani cu HA spontană sau renovasculară. Astfel, Levi şi colaboratorii au demonstrat că perindoprilul reduce hipertrofia celulară în peretele aortic, reduce colagenul şi creşte raportul elastină/colagen [citaţi de 157]. Efecte de reducere a hipertrofiei peretelui aortic au fost găsite şi sub tratament cu captopril şi cilazapril.

Pe arterele de rezistenţă o reducere a raportului medie/lumen şi a raportului intimă/lumen au fost găsite sub tratament cu perindopril şi respectiv captopril, în timp ce cilazaprilul a oprit remodelarea arterelor cerebrale şi le-a crescut distensibilitatea [157].

Cercetările clinice efectuate la om au folosit metodologii variate. Pentru arterele mari s-a utilizat ecografia Doppler care permite măsurarea grosimii peretelui şi diametrul lumenului arterelor mari şi medii [155, 156, 158], velocitatea undei pulsului, înregistrată la arterele carotide şi femurale, velocitate care variază invers cu complianţa arterială [153, 156] şi complianţa aortică calculată cu ajutorul presiunii pulsului şi a diametrelor telesistolice şi telediastolice aortice măsurate cu ajutorul rezonanţei magnetice [159]. Pentru arterele mici s-au folosit studii morfometrice efectuate pe arteriole din piele şi muşchi, recoltate prin biopsie, prin cercetarea vasodilataţiei maxime la antebraţ după un IECA, efort izometric şi după acetilcolină [40, 155, 162]. Rezultatele acestor studii pot fi sintetizate astfel: sub tratament antihipertensiv de durată între 1 şi 2 ani, complianţa arterelor mari, raportul perete/lumen şi diametrul lumenului au avut tendinţa de revenire la normal sau au prezentat o ameliorare evidentă, doar la pacienţii trataţi cu perindopril, cilazapril, captopril şi trandolapril. Deşi efectul antihipertensiv al IECA a fost asemănător cu cel al atenololului sau al diureticelor utilizate la un lot de control, modificările arteriale menţionate nu au fost găsite decât la grupul tratat cu IECA [159, 160].

La arterele de rezistenţă, perindoprilul a redus raportul perete/lumen în arterele tegumentare, indiferent de efectul pe PA, în timp ce atenololul nu a avut acest efect [158]. Rezultate asemănătoare au fost obţinute de

Scanned with OKEN Scanner

Schiffrin şi colaboratorii pe artere mici musculare recoltate prin biopsii sub tratament cronic cu cilazapril sau atenolol [162].

Rezultatele studiilor clinice şi experimentale menţionate ridică următoarele probleme:

– constituie un argument solid pentru intervenţia SRA în remodelarea arterială din HA;

– inhibitorii enzimei de conversie a Ang I în Ang II ar avea pe lângă un efect antihipertensiv nespecific şi un efect de oprire sau de regresie a remodelării arteriale, proprietate care nu a fost găsită la alte antihipertensive cu excepţia blocanţilor canalelor de calciu [156]. Această proprietate ar conferi un efect benefic suplimentar faţă de alte antihipertensive;

– efectele asupra modificărilor peretelui arterial ale IECA au fost găsite mai ales sub tratament cu perindopril şi cilazapril ceea ce ridică problema unor diferenţe între efectele diverşilor IECA asupra SRA vascular.

Implicaţiile clinice ale acestor observaţii sunt încă neclare, deoarece trialuri mari care să compare efectele IECA asupra modificărilor arteriale nu sunt încă finalizate. Un astfel de trial cu perindopril (PROTECT) este în derulare, ca şi trialul ALLHAT în care sunt cercetate efectele asupra accidentelor coronariene ale unui diuretic, a amlodipinei şi a lisinoprilului.

Trialul CAPPP încheiat recent, în care au fost studiate efectele terapiei antihipertensive cu captopril sau cu o asociere de betablocante şi diuretice asupra mortalităţii şi morbidităţii cardiovasculare, a arătat că diferenţele au fost nesemnificative [163]. În studiul HOT, încheiat tot recent, obiectivele studiului efectuat la peste 18 000 de pacienţi au fost evenimentele cardiovasculare majore la 3 nivele de TA diastolică „ţintă": ≤90, ≤85 şi respectiv ≤80 mmHg. Riscul evenimentelor s-a redus semnificativ la valori de TA diastolică ≤85 mmHg, valori obţinute cu o schemă de tratament în care la 47% din pacienţi a intrat un IECA asociat la felodipină [164].

Rezultă că spre deosebire de efectele IECA asupra hipertrofiei VS pe care poate să o reducă, efectul pe modificările arteriale deşi nu este bine demonstrat, rămâne foarte probabil. Documentarea clinică fermă a diferenţelor dintre diferite medicaţii antihipertensive asupra remodelării vasculare ar necesita trialuri mari, în care să fie recrutaţi pacienţi cu HA recentă, evaluarea finală să se facă după decenii de tratament, iar metodele utilizate în acest scop să fie obiective şi reproductibile. Astfel de trialuri nu par posibile în viitorul apropiat. Oricum, IECA, având aceste proprietăţi de antagonizare a SRA sunt un antihipertensiv de primă linie.

Scanned with OKEN Scanner

6.2.4. APLICAȚII CLINICE ALE SRA ÎN EVALUAREA ȘI DIAGNOSTICUL HA

Așa cum s-a arătat mai sus, determinarea ARP în sângele periferic permite încadrarea pacienților cu HA esențiale și secundare în forme cu renină normală, scăzută și crescută. Stabilirea profilului reninic are valoare prognostică și terapeutică. Alderman și colaboratorii [144] au confirmat recent observații mai vechi ale lui Brunner, Laragh și colaboratorii [165] după care riscul infarctului de miocard și al accidentelor vasculare cerebrale crește de la pacienții cu renină scăzută, la cei cu renină normală și este cel mai mare la hipertensivii cu renina crescută. După datele lui Alderman și colab. acest risc este la cele 3 categorii de hipertensivi de 2,8, 5,6 și respectiv de 14,7 la 1000 de pacienți/an [144]. În ce privește terapia, cunoașterea profilului reninic al pacientului ar permite selectarea de la început a unei terapii „optime": preparate care antagonizează SRA la pacienții cu renina crescută și normală, la care sunt de evitat antihipertensivele ce stimulează ARP cum ar fi salureticele și vasodilatatoarele directe, diureticele putând fi eficiente ca monoterapie la hipertensivii cu renina scăzută [69, 141, 167]. În practică, determinarea sistematică a profilului reninic nu s-a dovedit a fi eficientă clinic sau economic. Factorii de risc de care depinde prognosticul la un hipertensiv sunt multipli și nu există dovezi că acționând izolat și agresiv pe SRA se poate ameliora prognosticul HA. Din contră, în prezent este însușit conceptul după care pacientul hipertensiv trebuie abordat global în ce privește factorii de risc, HA fiind doar unul dintre aceștia factori [166, 167].

În ce privește alegerea terapiei, ea se poate face după criterii clinice, dar ținându-se cont de probabilitatea profilului reninic la diverse categorii de pacienți așa cum va fi discutat mai jos.

ARP în diagnosticul unor HA secundare a fost cercetată în HRV și în cea din hiperaldosteronismul primar. În HRV, ARP în sângele periferic a fost găsită crescută la aproximativ 50% din pacienți, sensibilitatea metodei fiind de 57% și specificitatea de 66% [69]. Rezultă că metoda are o valoare diagnostică și prognostică modestă și nu este folosită în practică. Creșterea puterii predictive a ARP periferice după administrarea a 50 mg captopril, deși reală, nu a impus metoda ca test neinvaziv de diagnostic.

Măsurarea ARP în sângele din venele renale recoltat prin cateterism a constituit o metodă de apreciere a semnificației funcționale a unei stenoze de arteră renală. Metoda se bazează pe creșterea producției de renină în rinichiul ischemic și pe supresia producerii reninei în rinichiul contralateral. Un raport ≥1,5/1 între cei 2 rinichi indică „lateralizare" în producerea de renină și ar constitui un factor de predicție de vindecare prin proceduri de

Scanned with OKEN Scanner

revascularizare a rinichiului ischemic. Valoarea predictivă ar fi de 92%, dar rezultate fals negative au fost notate la 65%. La pacienţii cu stenoze bilaterale de arteră renală interpretarea fiind şi mai dificilă s-a propus un index în care renina din fiecare venă renală este raportată la renina sistemică (renina venă renală – renina sistemică/renina sistemică). Un index mai mare de 0,24 indică o producţie de renină în exces, iar sub această valoare o supresie a eliberării de renină [citat de 69].

Aceste metode au fost mult folosite, dar în prezent utilizarea lor este în declin din cauza a numeroase rezultate fals negative şi a efectuării tot mai des a angioplastiilor transcutane cu balon în locul chirurgiei de revascularizare. Astfel, la pacienţii cu HA severe şi cu stenoză de arteră renală evidentă tendinţa este să se facă revascularizarea indiferent de rezultatul determinărilor de ARP din venele renale [69].

Nefrograma izotopică cu diverse substanţe radiofarmaceutice (^{99m}Tehneţiu DTPA, ^{99m}Tehneţiu-MAG, sau ^{99m}Tehneţiu-etilendi-cisteina), combinată cu administrarea de captopril este metoda neinvazivă cea mai folosită în prezent ca test de „screening" pentru indicaţie de arteriografie renală. Metoda se bazează pe efectul de reducere a perfuziei şi a funcţiei rinichiului ischemic după administrarea orală de captopril 25 mg. Acest răspuns constituie şi un argument pentru rolul Ang II în menţinerea perfuziei şi a funcţiei rinichiului ischemic. La pacienţi cu stenoză de arteră renală ≥70%, sensibilitatea metodei pentru HRV este 83%, iar specificitatea de 93 %. Dacă funcţia renală este normală nefrograma cu captopril are o sensibilitate şi specificitate în predicţia de vindecare prin revascularizare de 93 şi respectiv de 100%. Un test negativ exclude HRV la peste 80% [citat de 69].

În hiperaldosteronismul primar un adenom suprarenal sau hiperplazia suprarenală bilaterală produc aldosteron continuu şi fără control homeostazic. Excesul permanent de aldosteron realizează o tendinţă la retenţie de sodiu şi de apă, cu rezultat hipertensiune şi supresia producţiei de renină, răspunsul fiind fiziologic. Creşterea PA menţine natriureza şi un bilanţ sodic echilibrat, dar şi o eliminare crescută de potasiu care duce la hipopotasemie.

În diagnosticul acestui model natural de hipertensiune prin exces de hormon mineralocorticoid, algoritmul de explorare porneşte de la evidenţierea unei hipertensiuni asociate cu hipopotasemie în absenţa unei terapii diuretice viguroase.

Prima etapă este evidenţierea unei eliminări de potasiu peste 30 mmol/24 ore, iar în etapa următoare se demonstrează ARP scăzută şi aldosteronul plasmatic crescut.

Testul neinvaziv de „screening" recomandat în hiperaldosteronismul primar este cercetarea raportului dintre aldosteronul şi renina plasmatică

Scanned with OKEN Scanner

obținut din sângele venos. Dacă determinările se exprimă în ng/ml raportul normal este de 10, iar cele găsite în hiperaldosteronism sunt peste 20 şi chiar peste 50 [69]. Acest raport are valoare doar în condițiile în care aldosteronul plasmatic este crescut evident. La pacienții cu HAE cu renină joasă raportul poate fi, de asemenea, crescut, dar nivelul plasmatic al aldosteronului este normal. În caz de rezultate neconcludente poate fi utilă cercetarea efectului supresiv al captoprilului asupra aldosteronului plasmatic. Astfel, administrarea de 1 mg/kg captopril produce în mod normal o scădere marcată a aldosteronului plasmatic la 3 ore în HAE şi HRV şi rămâne nemodificat în hiperaldosteronismul primar.

Administrarea spironolactonei 400 mg/zi scade PA şi corectează tulburările metabolice din hiperaldosteronismul primar după 5 săptămâni de tratament. Deşi nu mai este recomandat ca test diagnostic, răspunsul la spironolactonă are valoare predictivă pentru răspunsul la tratamentul chirurgical [69]. La pacienții care nu se operează spironolactona constituie medicația de bază.

6.2.5. SRA ŞI TERAPIA ANTIHIPERTENSIVĂ

Încă din anii '60, când numărul preparatelor antihipertensive a crescut, clinicienii au observat că răspunsul pacienților la diverse medicamente era diferit. O înțelegere mai bună a acestui comportament, aparent inexplicabil, a fost posibilă datorită lucrărilor lui Laragh şi colaboratorii din anii '70. Aşa cum s-a arătat într-un paragraf anterior, acest grup de cercetători a demonstrat că pacienții cu renina crescută răspund bine la propanolol, iar acest răspuns este paralel cu scăderea ARP. Invers, la pacienții cu renina scăzută un efect antihipertensiv se obține la diuretice fără o creştere semnificativă a reninei. În fine, la un al 3-lea grup de pacienți, cu renina normală, monoterapia cu betablocante sau cu diuretice are efecte modeste, în timp ce asocierea celor două antihipertensive rezultă într-un efect antihipertensiv important [141]. Aceste tipuri de răspuns în funcție de profilul reninic al pacientului au fost confirmate şi de noi [142, 143, 147, 148] şi au stat la baza conceptului după care HA poate fi clasificată fiziopatologic în forme vasoconstrictive dependente de renină, de volum dependente de o manipulare homeostazică necorespunzătoare a sodiului şi mixte [141]. Acest concept a fost dezvoltat în anii următori, la cei 2 factori adăugându-se disfuncția sistemului nervos simpatic, factori hemodinamici centrali şi periferici, transportul celular de sodiu şi de calciu şi disfuncția endotelială [69, 169].

În prezent se consideră că HA este tulburare multifactorială şi heterogenă, iar mecanismele implicate în producerea creşterii TA diferă de la pacient la pacient (figura 6.7.). Ca atare, terapia antihipertensivă trebuie

Scanned with OKEN Scanner

individualizată dupa criterii clinice dar şi pe baza unor principii fiziopatologice. Mai mult, există în prezent dovezi după care la scăderi similare ale PA, medicamentele au efecte diferite asupra organelor ţintă. Din acest motiv, în prezent doar scăderea TA nu mai este considerată suficientă ci obiectivul terapiei este scăderea morbidităţii legate de HA prin prevenirea, oprirea sau chiar regresia afectării organelor ţintă. SRA având un rol important atât în producerea şi menţinerea HA, cât şi în afectarea organelor ţintă, antagonizarea medicamentoasă a SRA constituie un obiectiv de bază în terapia antihipertensivă [9, 10, 166, 167].

6.2.5.1. EFECTELE DIFERITELOR CLASE DE ANTIHIPERTENSIVE ASUPRA SRA

În funcţie de efectele lor asupra SRA, medicamentele antihipertensive se împart în 3 clase:

– Preparate care stimulează SRA. Din acest grup fac parte diureticele şi vasodilatatoarele directe [34, 151, 168]. Diureticele, prin depleţia de apă şi sodiu produc direct activarea SRA, fapt ce explică efectele hipotensoare modeste ale monoterapiei cu diuretice la majoritatea pacienţilor hipertensivi. Există totuşi categorii de pacienţi cu HA la care monoterapia cu diuretice este eficientă. Aceştia sunt pacienţii vârstnici, de rasă neagră, cei la care aportul de sodiu este mare şi la care ARP este scăzută, sau care nu răspund prin contrareglare la depleţie de sodiu şi de volum. Pacienţii din această categorie se încadrează de fapt în HA „dependente de volum" descrise de Laragh şi colaboratorii. La aceştia se adaugă şi cazurile rare de hiperaldosteronism primar a căror PA poate fi controlată cu doze mari de spironolactonă.

Vasodilatatoarele directe precum hidralazina, minoxidilul şi nifedipina produc stimularea SRA şi o activare simpatică printr-un mecanism de contrareglare. Deşi scad rezistenţele periferice vasodilataţia puternică este percepută de sistemele homeostazice ca „hipovolemie", iar reacţia de contrareglare este fiziologică. Acest fapt explică de ce vasodilatatoarele directe nu au efect antihipertensiv de durată ca monoterapie. Asocierea unor preparate care antagonizează mecanismele de contrareglare (betablocante, diuretice şi altele) constituie o terapie antihipertensivă eficientă şi în forme rezistente de HA [151, 167-169].

– Preparatele care antagonizează puternic SRA la diverse nivele. În acest grup intră IECA, blocanţii receptorilor AT_1 şi betablocantele, la care se adaugă inhibitorii direcţi ai reninei (enalkirenul, remikirenul, zankirenul), preparate încă investigaţionale. Tot în acest grup poate fi încadrată şi spironolactona care însă antagonizează doar efectele aldosteronului şi care nu este utilizată ca monoterapie decât în hiperaldosteronismul primar. Este probabil ca eplerenona, cu efecte similare spironolactonei dar fără efecte sexuale, să aibă o utilizare mai largă în asociere cu salureticele, pentru

Scanned with OKEN Scanner

antagonizarea hiperaldosteronismului reactiv şi în hipertensiuni cu tendinţa la hipopotasemie indusă tot de aldosteron (HRV, HA maligne şi altele). Un studiu clinic cu eplerenonă în HA şi comunicat recent a dat rezultate foarte promiţătoare [139]. În comparaţie cu amiloridul şi triamterenul, preparate care nu antagonizează receptorii aldosteronului, eplerenona care are acest efect ar putea preveni remodelarea cardiovasculară favorizată de aldosteron. Existenţa acestui efect urmează să fie cercetată în trialuri mari.

– Antihipertensive cu efect neutru sau slab supresiv pe SRA, ca şi pe sistemul simpatic. În această categorie intră restul antihipertensivelor utilizate în terapie: antagoniştii calciului (cu excepţia nifedipinei), alfablocantele periferice şi alfa agoniştii centrali.

Preparatele care antagonizează SRA sau care au efecte neutre sunt mai des eficiente ca monoterapie în HA decât cele care produc stimularea acestui sistem. În figura 6.9. este rezumat SRA şi locul intervenţiei preparatelor care antagonizează acest sistem.

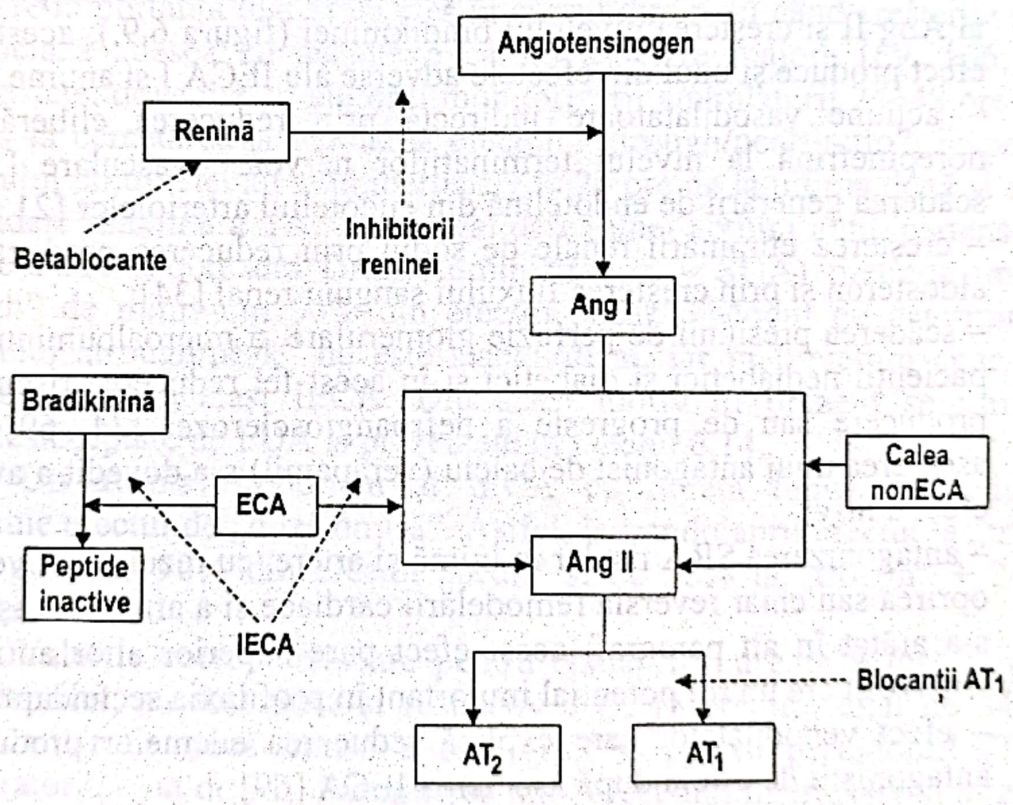


Figura 6.9. SRA şi locul antagoniştilor acestui sistem (AT_1 şi AT_2: receptorii angiotensinei II) (liniile continue: stimulare; liniile întrerupte: antagonizare).

6.2.5.2. INHIBITORII ENZIMEI DE CONVERSIE ÎN TERAPIA HA

Inhibitorii enzimei de conversie a Ang I în Ang II, care sunt preparatele cele mai utilizate din clasa antagoniştilor SRA, reduc, în funcţie de doză, generarea de Ang II prin calea dependentă de ECA. Sistemul este

Scanned with OKEN Scanner

doar parțial blocat, deoarece calea independentă de ECA nu este afectată. Mai mult, reducerea nivelului de Ang II și a absenței efectului de „feedback" crește Ang I și substratul reninei care crește și ea, rezultând o producție crescută de Ang II pe calea non IECA (figura 6.9.). Efectul final al IECA este o antagonizare importantă, dar incompletă a sistemului. Efectul antihipertensiv al IECA este amplificat de un aport scăzut de sodiu și de asocierea diureticelor [34, 133, 151, 167). Ambele condiții tind să producă un bilanț negativ de sodiu și o activare a SRAA.

Asocierea betablocantelor, care reduc producerea de renină prin stimulare betaadrenergică, reduce atât ARP, cât și Ang I plasmatică [169]. Această asociere s-a dovedit utilă și în clinică, efectul antihipertensiv fiind aditiv. Asocierea betablocantelor și IECA pare indicată la hipertensivi tineri cu activitate simpatică crescută (tahicardie, circulație hiperkinetică) și mai ales după infarct miocardic [169].

Efectele IECA cu relevanță clinică în HA sunt multiple:

– acțiune vasodilatatoare directă prin reducerea nivelului plasmatic al Ang II și creșterea nivelului bradikininei (figura 6.9.); acest ultim efect produce și unul din efectele adverse ale IECA I și anume tusea;

– acțiune vasodilatatoare indirectă prin reducerea eliberării de norepinefrină la nivelul terminațiilor nervoase vasculare [34] și scăderea generării de endotelină din endoteliul arteriolelor [21, 34];

– creșterea eliminării renale de sodiu prin reducerea producției de aldosteron și prin creșterea fluxului sanguin renal [34];

– scăderea presiunii de perfuzie glomerulare, a microalbuminuriei la pacienții nediabetici și diabetici și în acest fel reducerea riscului de producere sau de progresie a nefroangiosclerozei [34, 69, 170]; asocierea unui antagonist de calciu (verapamil) s-a dovedit a avea un efect aditiv;

– antagonizarea SRA tisular în inimă și artere, cu rezultat prevenirea, oprirea sau chiar reversia remodelării cardiace și a arterelor, așa cum s-a arătat în alt paragraf; acest efect pare superior altor antihipertensive și are un rol potențial important în profilaxia secundară;

– efect venodilatator care explică reducerea edemelor produse de antagoniștii de calciu după asocierea IECA [69];

– modificarea autoreglării circulației cerebrale spre valori mai joase ale PA. Acest efect explică toleranța bună a scăderilor TA atât la hipertensivi cât și la normotensivii cu IC [69];

– efect posibil antiaterosclerotic prin antagonizarea factorilor de creștere tisulari. Acest efect, pentru care există argumente experimentale, este în prezent cercetat la om;

– restabilirea răspunsului renal și suprarenal normal la aport de sare și la stimulare cu Ang II la pacienții „nonmodulatori" [69];

Scanned with OKEN Scanner

– creşterea sensibilităţii la insulină şi scăderea nivelului insulinemiei, efect cercetat şi observat în prezent mai mult pentru captopril [34, 69]. Acest efect, alături de cel de prevenire a evoluţiei glomerulosclerozei diabetice, face ca acest IECA să aibă o indicaţie specială la pacienţii cu HA şi diabet zaharat [69].

Preparatele de IECA, caracteristicile lor şi dozele utilizate cel mai des în terapia HA sunt prezentate în tabelul 6.14.

Spre deosebire de IC, în HA aceste preparate, ca şi altele, au fost cercetate la serii mai mari de pacienţi, experienţa actuală fiind rezumată de Opie [34, 157]. Între preparatele de IECA există diferenţe de farmacocinetică, diferenţe care pe plan clinic au relevanţă certă doar în numărul de doze ce se administrează pe zi (tabelul 6.14.).

Preparatele cu acţiune pe 24 ore au avantajul comodităţii administrării unei doze unice, fapt ce creşte şi complianţa la tratamentul de durată [171]. Un alt avantaj este protecţia oferită de evitarea creşterii TA între două administrări de preparate cu durată mai scurtă de acţiune. Acest efect are importanţă mare mai ales în cursul dimineţii când creşterile de TA se asociază adesea cu accidente cardiovasculare majore [69, 166, 167]. Aceste date, dovedite cu ajutorul monitorizării ambulatorii 24–48 ore a TA, au dus la cercetarea şi validarea efectului „trough/peak ratio", respectiv a raportului dintre efectul antihipertensiv la 24 ore de la ultima doză şi efectul de scădere maximă a TA. Pentru validarea unei acţiuni antihipertensive pe 24 ore FDA (Food and Drug Administration – SUA) pretinde un efect „trough" de minimum 50% din efectul „peak". Modul de determinare a raportului „trough/peak" nu este standardizat, iar în literatură apar valori diferite pentru acelaşi IECA. Din acest motiv în prezent se utilizează valorile acceptate de FDA şi prezentate în tabelul 6.14.

Un avantaj important al IECA cu durată lungă de acţiune îl constituie efectul de „doză omisă". Astfel, la trandolapril efectul la „trough" a fost găsit de 90% din efectul „peak" şi de 58% la „trough" + 24 ore, respectiv 48 ore.

Valorile corespunzătoare pentru enalapril, cu care a fost comparat trandolaprilul, au fost 50% şi respectiv 10% [Meredith, citat de 34]. Un efect similar de doză omisă a fost găsit şi pentru perindopril [Tan şi colaboratorii, citat de 34]. Menţinerea unui efect antihipertensiv şi în ziua în care se omite administrarea dozei, situaţie nu rară în terapia de durată, previne creşterile bruşte ale TA.

O altă diferenţă de cinetică între preparatele de IECA este calea exclusiv renală sau mixtă, renală şi biliară, de eliminare (tabelul 6.14.). Avantajele preparatelor cu cale dublă de eliminare le-ar putea face preferabile la pacienţii cu insuficienţă renală, dar date ferme în acest sens lipsesc până în prezent. Observaţii experimentale şi clinice rezumate de Opie [34, 157] sugerează că ar putea exista şi alte diferenţe, de

Scanned with OKEN Scanner

farmacocinetică şi de farmacodinamie, mai ales în ce priveşte remodelarea vasculară. Nici pentru acest aspect nu există date suficiente pentru a considera un preparat superior altora. Ca urmare acţiunea antihipertensivă a preparatelor de IECA este până în prezent considerată „efect de clasă". Excepţie face preferinţa pentru captopril la pacienţii cu HA şi diabet zaharat, la care acest IECA este considerat a avea un rol protectiv glomerular mai mare. Şi în acest caz, observaţii recente arată că lisinoprilul şi trandolaprilul ar avea efecte asemănătoare [34, 173].

Tabelul 6.14. Clasificarea IECA după caracteristici clinice, farmacocinetice, farmacodinamice şi dozele utilizate în HA [modificat după 34]

Preparatul şi caracteristicile chimice	Forma activă	$T_{½}$ (ore)	Lipo-filie	Elimi-nare	IC_{50}	Trough/ peak (%)	Doză (mg/zi)	Nr. doze
1. Cu grupare sulfhidril								
- Captopril	- captopril	4-6	+	R	22	?	75 – 150	2 – 3
- Zofenopril	- zofenopril	?	+++	R (B)	?	?	60	2
2. Fără grupare sulfhidril	at							
a.		11	+	R (B)	1	?	10 – 80	1 – 2
Liposolubile:	- benaze-	9	?	R	1	?	2,5 – 5	1
Benazepril	prilat	6-11	+	R	3	?	5 – 40	2
Cilazapril	- cilaza-	3-10	++	R	2	75 – 100	4 – 8	1
Enalapril	prilat	1,8	++	R (B)	6	50	10 – 40	1 – 2
Perindopril	- enala-	13-	++	B (R)	2	50 – 60	2,5 – 10	1 – 2
Quinapril	prilat	17	+++	B (R)	2	50 – 90	2 – 4	1
Ramipril	- perin-	10						
Trandolapril	doprilat		0	R	5	?	10 – 40	1
	- quina-	7-12						
b.	prilat							
Hidrosolubile:	- ramipril		+++	R, B	?	50 – 80	10 – 40	1
-Lisinopril	- trandola-	12						
	prilat							
3. Cu grupare fosforil	- lisinopril							
-Fosinopril								
	- fosino-							
	prilat							

Legendă:
- IC_{50}: concentraţia de IECA necesară pentru inhibarea a 50% din ECA plasmatică la om
- R: renal ; - B: biliar
- Trough/peak: raportul dintre scăderea TA la 24 ore după ultima doză şi efectul maxim (valorile T/P sunt după FDA, [34])

Scanned with OKEN Scanner

6.2.5.2.1. Rolul actual al IECA în terapia HA

În monoterapie efectul antihipertensiv al IECA este similar cu al celorlalte preparate (antagonişti de calciu, betablocante, diuretice etc.). În comparaţie cu acestea IECA au însă două avantaje: toleranţa mai bună şi un efect protectiv cardiovascular mai mare [34].

Toleranţa mai bună a IECA se referă la două aspecte: riscul mai redus de efecte adverse şi o calitate mai bună a vieţii sub tratament.

Efectele adverse ale IECA menţionate la capitolul IC şi care impun întreruperea tratamentului au o incidenţă între 10 şi 15% [104]. Această incidenţă este mai redusă decât cea observată la alte antihipertensive cu excepţia ARA. Un alt avantaj al IECA îl constituie efectul metabolic neutru sau chiar de creştere a sensibilităţii la insulină [34].

Calitatea vieţii se referă la unele efecte ale medicamentelor antihipertensive, care deşi nu sunt considerate reacţii adverse şi nu impun întreruperea tratamentului, produc pacientului un grad de disconfort care determină adesea abandonarea tratamentului. Astfel de efecte sunt oboseala musculară şi starea de astenie (diuretice, betablocante), scăderea capacităţii de concentrare, coşmare şi disfuncţie sexuală (betablocante), edeme (antagoniştii de calciu) etc. Pacienţii tineri şi de vârstă mijlocie, foarte activi profesional şi social, sunt adesea asimptomatici şi nu acceptă tulburările menţionate mai sus care îi fac să se simtă mai rău sub tratament decât fără el, cu rezultat abandonarea tratamentului. Un studiu efectuat la peste 21 000 de pacienţi, în care s-a urmărit aderenţa la tratamentul antihipertensiv timp de 1 an, în funcţie de preparatul prescris, a arătat următoarele procente: 64 pentru ARA, 58 pentru IECA, 50 pentru antagoniştii de calciu, 43 pentru betablocante şi 38 pentru diuretice [171]. Deoarece efectuarea continuă a tratamentului este esenţială pentru reducerea riscului de evenimente cardiovasculare, iar hipertensivii asimptomatici au oricum o complianţă scăzută la tratament, alegerea unor preparate care nu alterează calitatea vieţii este absolut necesară.

Efectul protectiv cardiovascular superior al IECA a fost demonstrat la pacienţi cu disfuncţie sistolică VS după IMA, în IC (tabelul 6.9.) prin efectul de reducere a HVS [34, 69] şi a grosimii arterelor carotide (raportul perete/lumen) [158-162] şi prin reducerea microalbuminuriei şi a progresiei insuficienţei renale în HA asociată cu nefropatie diabetică şi nediabetică [34, 69, 170].

Ca urmare a calităţilor menţionate prescrierea IECA pentru HA a crescut în SUA de 6 ori în 10 ani (între 1986 şi 1996), creştere depăşită doar de antagoniştii de calciu, în timp ce prescrierea altor preparate a rămas constantă sau s-a redus [analiză SUA, citată de 69].

Scanned with OKEN Scanner

Tendința practicienilor de a înlocui diureticele şi/sau betablocantele cu IECA şi antagoniştii de calciu ca primă opțiune a produs controverse între experții care elaborează recomandări şi ghiduri de HA. Astfel experții americani din JNC V (1993) recomandă începerea tratamentului antihipertensiv cu diuretice sau betablocante şi recurgerea la alte clase de medicamente în eşecul acestor preparate. În favoarea acestei opțiuni s-au adus următoarele argumente:

– betablocantele şi diureticele sunt singurele clase de antihipertensive pentru care există dovezi ferme că reduc mortalitatea şi morbiditatea legată de HA, aşa cum a rezultat din trialuri mari cu obiectivele amintite („hard end-points");

– pentru IECA şi alte clase mai noi de preparate nu există dovezi rezultate din trialuri cu obiective mortalitatea şi morbiditatea („hard end-points");

– costul mult mai redus al diureticelor şi al betablocantelor.

În opoziție cu acest concept clasic „în trepte", experții OMS şi ai Societății Internaționale de Hipertensiune (WHO/ISH) recomandă alegerea individualizată a primului preparat, după caracteristicile pacientului şi după condițiile asociate [9]. Argumentele pe care se bazează această recomandare sunt:

– efectele protective cardiovasculare ale IECA asupra HVS şi remodelării vasculare, deşi sunt considerate „surrogate end-points", sunt bine documentate în studii experimentale şi clinice;

– trialurile mari cu obiectiv morbiditate şi mortalitate au utilizat preparatele cele mai folosite în perioada organizării trialurilor în anii '80, pacienții recrutați au fost în majoritatea cazurilor vârstnici, cu rată mare de evenimente cadiovasculare pe termen scurt, iar efectele favorabile pot fi explicate de scăderea TA *per se* şi nu de efectul specific al unei clase de medicamente;

– toleranța mai bună a IECA ca şi a claselor mai noi de medicamente cum sunt antagoniştii de calciu şi ARA determină o complianță mai bună la tratament cu consecință risc mai redus de evenimente cardiovasculare şi implicit eficiență economică pe termen lung;

– demonstrarea superiorității IECA în trialuri cu obiectiv mortalitate şi morbiditate la hipertensivi adulți şi tineri, fără afectare de organ la recrutare, ar necesita un număr imens de pacienți şi o durată foarte lungă a studiului datorită ratei mici de evenimente majore la această categorie de pacienți. Rezultatele unor astfel de trialuri nu sunt de aşteptat în curând, iar până atunci IECA alături de alte antihiprtensive mai noi ar fi ținute „ostatece".

În favoarea acestor argumente pledează rezultatele trialului CAPPP, [163], care au arătat absența unor diferențe semnificative de morbiditate şi

Scanned with OKEN Scanner

mortalitate la pacienţii trataţi cu captopril în comparaţie cu cei supuşi unei terapii cu diuretice şi/sau betablocante.

Argumentele de mai sus, dezbătute intens în ultimii ani, au determinat o atitudine mai elastică şi a experţilor JNC, care în ultimul raport din 1997 [10] admit că la anumite categorii de pacienţi tratamentul poate fi început cu alte preparate, inclusiv cu IECA. Această conduită a fost adoptată şi de experţii care au redactat ghidul „Hipertensiunea Arterială" pentru Colegiul Medicilor din România [172].

Pe baza datelor menţionate mai sus indicaţiile IECA ca primă opţiune în HA se fac în funcţie de unele condiţii patologice asociate şi la anumite categorii de hipertensivi [9, 10, 34, 69, 172]:

– condiţii asociate HA:
  – disfuncţie sistolică de VS, mai ales după IMA;
  – insuficienţă cardiacă;
  – hipertrofie VS;
  – nefropatie diabetică;
  – insuficienţă renală compensată (creatinină serică sub 3 mg%) de cauză diabetică sau nediabetică;
  – pacienţi la care ARP crescută a fost documentată prin dozări sau suspectată în forme severe – maligne de HA şi la pacienţi cu restricţie severă de sodiu sau trataţi viguros cu diuretice.
– categorii speciale de hipertensivi:
  – pacienţi la care evitarea unei alterări sau agravări a unor anomalii ale metabolismului glucidic sau lipidic este importantă: diabet zaharat, glicemie la limita valorilor superioare normale, mai ales la pacienţi descendenţi dintr-un părinte diabetic, rezistenţă la insulină şi hipercolesterolemie;
  – pacienţi tineri şi de vârstă medie, la care menţinerea unei activităţi fizice, intelectuale şi sexuale normale este importantă.

6.2.5.2.2. Asocieri de antihipertensive bazate pe IECA

Trialul HOT a demonstrat că obţinerea şi menţinerea unei TA optime necesită la peste 60% din pacienţi asocieri de medicamente antihipertensive [164]. Asocieri eficiente clinic şi raţionale fiziopatologic ale IECA sunt cu diuretice, cu betablocante şi cu antagoniştii de calciu.

Diureticele amplifică efectul antihipertensiv al IECA prin depleţia de sodiu, iar acţiunea de stimulare a SRAA a diureticelor este antagonizată de IECA [34, 69, 167, 168]. Această asociere este larg utilizată, motiv pentru care sunt disponibile preparate care conţin într-o tabletă un diuretic şi un IECA.

Scanned with OKEN Scanner

Betablocantele asociate la IECA sunt indicate la pacienții coronarieni și mai ales după IMA, condiție în care betablocantele au un efect independent de reducere a evenimentelor coronariene noi [179]. Asocierea betablocantelor este indicată de asemenea la subiecți tineri cu circulație hiperkinetică și în unele aritmii. Recent, betablocantele au intrat alături de IECA în schema de tratament a IC, inclusiv de cauză hipertensivă [11]. Această asociere este justificată și fiziopatologic deoarece betablocantele amplifică antagonizarea SRA prin reducerea producției de renină stimulată de IECA [169] (figura 6.9.).

Antagoniștii de calciu asociați la IECA constituie o combinație care are două avantaje: un efect antihipertensiv puternic și bine tolerat și un efect protectiv vascular aditiv. Antagoniștii de calciu și IECA au un efect direct de ameliorare a disfuncției endoteliale și de reducere a remodelării și indirect prin creșterea activității bradikininei [69]. În clinică cel mai evident efect al acestei asocieri a fost asupra reducerii microalbuminuriei în nefropatia diabetică [173].

Asocierile IECA cu *alte antihipertensive* (alfablocante, preparate cu acțiune centrală etc.) sunt de asemenea posibile, dar eficiența și toleranța lor fiind puțin studiată, utilizarea lor este redusă și impune precauție sporită.

6.2.5.3. ANTAGONIȘTII RECEPTORILOR ANGIOTENSINEI ÎN HA

Antagoniștii receptorilor angiotensinergici constituie o clasă nouă de preparate care antagonizează SRA prin fixare selectivă pe receptorii AT_1. Efectele cunoscute ale Ang II fiind produse prin receptorii AT_1, ARA blochează aceste efecte (tabelul 6.4.). Spre deosebire de IECA ce inhibă doar Ang II produsă pe calea ECA, ARA au efect și asupra Ang II produsă pe calea non-ECA, antagonizarea SRA fiind astfel mai completă. Răspunsul componentelor SRAA la ARA este diferit de cel obținut sub IECA, așa cum rezultă din tabelul 6.15. după McInnes [174].

Dintre acestea două au probabil relevanță clinică: creșterea nivelului plasmatic al Ang II și absența efectelor asupra bradikininei ale ARA.

Creșterea nivelului plasmatic al Ang II sub ARA stimulează receptorii AT_2, care au efecte opuse stimulării receptorilor AT_1 (tabelul 6.4.). Acest efect explică probabil absența unei acțiuni defavorabile a nivelelor crecute ale Ang II plasmatice sub tratament cu ARA, efect supravegheat atent în studii clinice datorită relației cunoscute dintre riscul cardiovascular și Ang II plasmatică la pacienți cu HA [144]. Un alt efect defavorabil posibil al creșterii Ang II plasmatice a fost considerat riscul întreruperii bruște a terapiei cu ARA, care ar putea produce prin efect de sevraj creșteri foarte mari ale TA. Nici acest efect nu a fost confirmat, fapt explicat prin eliberarea treptată și lentă a ARA de pe receptorii AT_1 [38].

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 6.15. Efectele diferite ale ARA şi IECA asupra componentelor SRA [modificat după 174]

	Antagoniştii receptorilor AT_1	IECA
Stimulare AT_1	↓↓	↓
Stimulare AT_2	↑	↓
ARP	↑	↑
A II plasmatică	↑	↓
Bradikinină	0	↑

Lipsa efectului asupra bradikininei al ARA are avantajul absenței tusei, dar şi dezavantajul posibil al absenței unor efecte protectoare cardiovasculare ale acestui peptid care sunt prezente în tratamentul cu IECA. Pentru acest aspect nu există în prezent observații experimentale şi clinice concludente. Un alt avantaj probabil al ARA legat de absența unei acțiuni asupra bradikininei este lipsa reducerii efectelor terapeutice prin asocierea cu antiinflamatoare nesteroidiene, aşa cum se întâmplă în tratamentul cu IECA.

Acțiunea ARA asupra aldosteronului plasmatic pare şi ea diferită de cea a IECA, dar obsrvațiile disponibile în prezent sunt puține şi contradictorii [38]. Oricum acest efect pare mai redus ca şi riscul de hiperpotasemie sub tratament cu ARA.

Efectele ARA asupra rinichiului sunt, în general, similare cu cele ale IECA. Într-un studiu comparativ între losartan şi enalapril efectele asupra proteinuriei au fost asemănătoare [citat de 69], fapt observat şi sub valsartan [Gavensvoort, citat de 38]. Spre deosebire de IECA, ARA nu par să crească sensibilitatea la insulină [citat de 69].

6.2.5.3.1. Preparatele de ARA şi diferențele dintre ele

Primul preparat de ARA cu administrare orală a fost losartanul, motiv pentru care a şi fost cel mai utilizat în studii experimentale şi clinice [citat de 174] şi de asemenea pentru comparare cu preparate apărute ulterior. Toți ARA comerciali au terminația „sartan" şi ca în cazul IECA, industria promovează preparatul propriu creditat cu efecte superioare. În prezent sunt disponibili 6–7 „sartani", din care în România sunt comercializați losartanul (Cozaar), valsartanul (Diovan), candesartanul (Atacard) şi irbesartanul (Aprovel). Principalele caraceristici ale ARA, cu posibilă relevanță clinică, sunt rezumate în tabelul 6.16.

Efectul alimentelor asupra absorbției preparatului face preferabilă administrarea valsartanului şi a eprosartanului pe stomacul gol. Majoritatea ARA au eliminare predominant biliară, doar losartanul are şi o eliminare

Scanned with OKEN Scanner

renală importantă [174]. Deşi nu există date clinice concludente, acest fapt impune un control clinic şi eventual o reducere a dozelor la pacienţii cu disfuncţie hepatică şi respectiv renală.

Efectul unor concentraţii crescânde de Ang II asupra blocării receptorilor AT_1 de către diverse preparate de ARA este diferit, în sensul că la unii ARA Ang II nu mai are efect nici la concetraţii mari (efect antagonist insurmontabil), la alte preparate concentraţii mai mari de Ang II produc efectul acestei substanţe (efect antagonist surmontabil), în timp ce la unele preparate acest efect este intermediar [174]. Semnificaţia clinică a acestor diferenţe între preparate nu este clară. Candesartanul, care produce antagonism insurmontabil are cel mai mic dozaj şi efectul antihipertensiv pe 24 ore cel mai lung („trough/peak" ratio). De altfel, toate preparatele de ARA au acest efect de peste 50%, prag cerut de FDA pentru antihipertensivele cu o singură administrare pe zi (tabelul 6.16.).

Această proprietate constituie un mare avantaj al ARA deoarece în tratamentul de durată este demonstrată o relaţie inversă dintre numărul de tablete şi de doze pe zi şi complianţa la tratament.

Dozele necesare obţinerii unui efect antihipertensiv sunt de asemenea diferite (tabelul 6.16.). Există şi diferenţe în ce priveşte relaţia doză–efect. Losartanul se pare că are un efect de plafonare a efectului, doze peste 50mg/zi cresc puţin efectul antihipertensiv. La valsartan, irbesartan şi candesartan efectul antihipertensiv creşte paralel cu creşterea dozelor [174]. Totuşi, lipsind studii concludente care să compare relaţia doză – efect între diverse preparate, aceste diferenţe sunt privite cu rezervă [174].

6.2.5.3.2. Efectele adverse şi contraindicaţiile ARA

Efectele adverse şi contraindicaţiilor antagoniştilor receptorilor angiotensinergici pot fi clasificate în două categorii: efecte specifice antagonizării SRA şi efecte adverse nelegate de SRA.

În prima categorie efectele adverse şi contraindicaţiile sunt similare cu cele ale IECA, mai ales în ce priveşte riscul insuficienţei renale în stenoze bilaterale de arteră renală. Hiperpotasemiile sunt mai rare decât sub IECA, dar suplimentarea de potasiu şi asocierea diureticelor economisitoare de potasiu este nerecomandată. Efectul asocierii spironolactonei, reconsiderat în IC, nu este cunoscut şi rămâne nerecomandat. Tusea, relativ frecventă sub IECA, are la pacienţii trataţi cu ARA o incidenţă similară cu cea observată sub placebo, fapt explicat prin absenţa efectului ARA asupra bradikininei [38, 174]. Efectul hipotensor de primă doză şi hipotensiunea ortostatică au fost rar observate sub ARA (sub 1%), fapt explicat prin instalarea mai lentă a efectului hipotensor şi prin absenţa creşterii nivelului de bradikinină [38, 174].

Scanned with OKEN Scanner

Tabelul 6.16. Diferențele între preparatele de ARA cu posibilă relevanță clinică [38, 174]

	Losartan	Valsartan	Irbesartan	Candesartan	Telmisartan	Eprosartan
Biodisponibilitate (%)	25–30	10–35	65–80	15	42–58	13
Efectul alimentar asupra absorbției	–10%	–40–50%	–	–	–	–25%
$T_{1/2}$ plasmatic (ore)	6–9	6	10–15	9	24	5–9
Eliminare–inactivare metaboliți – hepatică % – renală %	 65 35	 83 13	 80 20	 67 33	 99 I	 90 7
Legarea la receptor în funcție de concentrația A II (I = insurmontabilă; S = surmontabilă; I–S = intermediară)	S (metabolitul EXP – 3174: I–S)	I–S	S (sau I–S)	I	S (sau I–S)	S
Trough/peak (%)	50–75	66	58–74	>80	>50	67–88
Doză (mg/zi)	50–100	80–160	150–300	8–16	100–200	400–800

Scanned with OKEN Scanner

Efectele adverse nespecifice (cefalee, reacţii digestive, alergice etc.) au avut o incidenţă similară cu cea notată sub placebo [174]. În general întreruperile de tratament pentru reacţii adverse au incidenţa cea mai mică dintre toate antihipertensivele (sub 10%), motiv pentru care ARA sunt în prezent considerate preparatele cel mai bine tolerate.

Dezavantajele ARA, care limitează extinderea utilizării lor sunt, pe lângă o experienţă clinică relativ redusă, costul lor mult mai mare decât al IECA şi al celorlalte antihipertensive.

6.2.5.3.3. ARA în terapia antihipertensivă. Studii clinice

Cercetările clinice ale efectelor ARA în HA au început relativ recent, sunt puţine, cu număr mic de pacienţi şi de durată scurtă (8 – 12 săptămâni). ARA au fost cercetate mai ales în studii deschise în comparaţie cu alte antihipertensive, inclusiv cu IECA, şi în studii randomizate versus placebo şi mai puţin în cercetări comparative între două preparate de ARA [citat de 174]. Obiectivele acestor studii au fost efectul antihipertensiv şi toleranţa preparatelor. Recent au fost publicate două studii cu valsartan cu durată mai lungă (1–2 ani), în care s-a demonstrat că efectele preparatului administrat singur sau asociat cu hidroclorotiazida s-au menţinut în timp [175, 176], iar într-un trial efectuat în comparaţie cu atenolol la pacienţi cu HVS s-a demonstrat că reducerea HVS este semnificativ mai mare sub valsartan [177]. Compararea efectelor antihipertensive ale valsartanului, candesartanului şi irbesartanului cu primul preparat comercial, losartanul, a arătat că celelalte preparate au avut efecte mai mari de scădere a TA. Interpretarea acestor rezultate se face însă cu reţinere din cauza dozelor relativ mici de losartan utilizate [174]. Faptul că această atitudine este justificată este confirmat de rezultatele unei metaanalize publicate foarte recent [185]. Metaanaliza s-a făcut pe 43 de studii randomizate şi controlate care au inclus 11281 pacienţi şi în care au intrat şi cercetări comparative a 4 ARA: losartan, valsartan, candesartan şi irbesartan. Rezultatele acestei metaanalize pot fi sumarizate astfel:

– toţi ARA cercetaţi au efecte antihipertensive asemănătoare la dozajul uzual, procentul de pacienţi care răspund la monoterapie fiind cuprins între 53 şi 63;
– asocierea hidroclorotiazidei creşte procentul de pacienţi responsivi la 56–70;
– toate preparatele ARA au o plafonare a efectului antihipertensiv la creşterea dozelor (curbă cu aplatizare a relaţiei doză – efect).

Trialuri mari cu obiectiv evenimente cardiovasculare majore, aşa cum au fost publicate recent pentru IECA (CAPPP, HOT) nu sunt disponibile în prezent pentru ARA. Un astfel de trial cu losartan este în curs de derulare (LIFE) şi rezultatele lui sunt aşteptate în viitorul apropiat.

Scanned with OKEN Scanner

Concluziile cercetărilor clinice asupra ARA permit următoarele observaţii care stabilesc şi locul acestei terapii în HA:

– Antagoniştii receptorilor angiotensinergici sunt antihipertensive eficiente, cu efecte de scădere a TA similare cu cele ale IECA, antagoniştilor de calciu, betablocantelor şi diureticelor. La pacienţii la care monoterapia cu ARA produce o scădere insuficientă a TA, asocierea salureticelor permite în majoritatea cazurilor de HA uşoară–medie obţinerea unei TA optime şi prevenirea hipopotasemiei. ARA pot fi asociaţi şi cu alte antihipertensive. De exemplu asocierea valsartanului la pacienţi cu edeme sub tratament cu amlodipină a produs reducerea acestui efect advers [citat de 38], răspuns observat de altfel şi în cazul IECA. Asocierea IECA–ARA în HA mai rezistente la tratament este teoretic tentantă, bine suportată în unele observaţii făcute în IC [citat de 38], dar mult mai scumpă şi fără beneficii sigure faţă de asociarea cu saluretice;

– Efectele protective cardiovasculare ale ARA par asemănătoare cu cele ale IECA, dar în lipsa unor date clinice IECA continuă să constituie prima opţiune la pacienţi după IMA, diabetici, nefropatie diabetică şi obezitate cu rezistenţă la insulină. Într-un studiu recent reducerea proteinuriei la hipertensivi cu nefropatie a fost găsită similară sub losartan şi enalapril [citat de 38], astfel că şi efectele asupra rinichiului ale ARA sunt probabil similare cu cele ale IECA;

– Antagoniştii receptorilor angiotensinergici au avantajul unei toleranţe mai bune decât IECA şi alte antihipertensive, inclusiv la vârstnici, şi un efect antihipertensiv pe 24 ore după administrarea unei singure doze. Această ultimă calitate, pe lângă faptul că simplifică tratamentul şi creşte complianţa pacienţilor, pare să ofere şi o protecţie cardiovasculară mai mare. Există observaţii care arată că afectările organelor ţintă sunt mai bine corelate cu media valorilor TA pe 24 ore determinate prin monitorizarea TA decât cu TA măsurată convenţional;

– Acţiunea ARA nu este afectată de asocierea antiinflamatoarelor nesteroidiene, asociere frecvent necesară la vârstnici cu reumatism cronic degenerativ [38] şi la care efectele IECA sunt mult diminuate de antiinflamatoare din cauza efectului IECA asupra bradikininei.

Pe baza acestor date indicaţiile ARA, care se suprapun cu cele ale IECA, sunt ca a doua opţiune la pacienţi care nu tolerează IECA mai ales din cauza tusei sau a altor efecte adverse şi ca primă opţiune la pacienţi activi, cu risc cardiovascular crescut, la care simplitatea administrării şi toleranţa bună face mai probabilă o complianţă mai mare la tratament decât sub IECA.

Scanned with OKEN Scanner

6.2.5.4. BETABLOCANTELE

Blocanții receptorilor β-adrenergici au un efect antihipertensiv complex şi încă neclar: efect central de reducere a stimulării simpatice, scăderea debitului cardiac, un efect tardiv de reducere a rezistențelor periferice şi un efect de reducere a generării de renină la nivelul aparatului juxtaglomerular.

Scăderea ARP, paralel cu cea a TA, a fost demonstrată de grupul lui Laragh [141] şi mult timp betablocantele au fost singurele medicamente eficiente în clinică şi care antagonizează SRA. Acțiunea antireninică este însă limitată deoarece producerea reninei în aparatul juxtaglomerular este stimulată pe lângă activitatea simpatică *via* betareceptori şi direct de receptori de presiune din arteriola aferentă şi de macula densa care este sensibilă la conținutul de sodiu din urina primară. Acțiunea betablocantelor asupra SRA tisular nu este cunoscută.

Deşi limitată, acțiunea antireninică şi antihipertensivă a beta-blocantelor ca monoterapie devine importantă în asocierile cu diuretice şi vasodilatatoare, unde antagonizează efectele de contrareglare şi de asemenea, în asociere cu IECA, unde este posibil ca efectul de prevenire a creşterii ARP şi Ang I să aibă relevanță clinică [169].

6.2.5.5. ANTAGONIŞTII ALDOSTERONULUI ÎN TERAPIA HIPERTENSIUNII ARTERIALE

La pacienții cu hiperaldosteronism primar tratați conservativ, eficiența spironolactonei în doze mari este cunoscută şi utilizată demult [69]. Spironolactona asociată altor antihipertensive a fost utilizată în HA cu hipopotasemie cum sunt HA maligne, renovasculare şi unele HA esențiale, de regulă severe. În HA esențiale spironolactona are un efect diuretic modest, dar are avantajul economisirii de potasiu. Deoarece creşterea mortalității la pacienții tratați cu diuretice a fost demonstrată printr-o metaanaliză concludentă [178] şi pusă pe seama creşterii riscului de aritmii maligne favorizate de depleția de potasiu, asocierea preparatelor care previn acest efect este rațională. Ca urmare, au apărut combinații de diuretice care includ spironolactona şi saluretice. Un astfel de preparat este Aldactazide. Efectele hormonale sexuale au făcut însă ca şi această asociere să aibă o utilizare redusă.

Introducerea în terapia HA a canrenoatului de potasiu cu administrare orală a demonstrat, într-un studiu comparativ cu spironolactona, că ginecomastia este practic absentă sub canrenoatul de potasiu, dar scăderea libidoului, deşi semnificativ mai rară, apare la 25% din pacienți [136, 137].

Scanned with OKEN Scanner

În anii '70–'80 au început să fie utilizate două diuretice slabe, care însă economisesc potasiul: triamterenul şi amiloridul. Mecanismul lor de acţiune este diferit de cel al spironolactonei, ele neantagonizând prin fixare la receptori efectele aldosteronului şi neavând nici efecte hormonale. Ca urmare au apărut pe piaţă combinaţii de saluretice cu aceste preparate (Moduretic, Triampur etc.) care au fost preferate spironolactonei, a cărei utilizare s-a redus şi mai mult în HA.

Interesul pentru antagonizarea aldosteronului în HA a crescut în anii '90 datorită a doi factori:

– demonstrarea de către Weber şi Brilla a rolului aldosteronului în fibroza asociată hipertrofiei ventriculare în unele forme de HA experimentală şi efectul „antifibrotic" al dozelor mici de spironolactonă (tabelul 6.5.);

– sintetizarea eplerenonei, un antagonist al aldosteronului fără efecte hormonale sexuale [138].

Primul studiu clinic publicat recent a confirmat datele experimentale asupra efectelor antihipertensive şi absenţa efectelor sexuale ale eplerenonei [139]. Aceste rezultate au determinat organizarea unor studii clinice mari menite să cerceteze eficienţa antihipertensivă şi cardioprotectivă a eplerenonei. Dacă aceste rezultate vor confirma calităţile promiţătoare ale acestui preparat, în mod cert el va constitui un progres important în terapia HA.

6.3. TERAPIA CU IECA ÎN PREVENIREA PROGRESIEI ŞI A COMPLICAŢIILOR ATEROSCLEROZEI: INDICAŢII PROBABILE ÎN VIITORUL APROPIAT

Există date experimentale care arată că SRA vascular intervine în progresia aterosclerozei şi în destabilizarea plăcilor de aterom, facilitând formarea de trombi. Mecanismele prin care SRA vascular are astfel de efecte sunt după Dzau [180] următoarele:

– rol de factor de creştere a miocitelor din peretele vascular;
– stimularea migrării miocitelor vasculare;
– producerea de anion superoxid;
– activarea mediatorilor inflamaţiei;
– activarea monocitelor/macrofagelor;
– efecte ale Ang II asupra trombocitelor;
– stimularea inhibitorului activatorului plasminogenului (PAI-1).

Angiotensina are efecte directe şi indirecte asupra disfuncţiei endoteliale observată în vasele afectate de ateroscleroză, cât şi la distanţă de acestea şi prin creşterea producţiei de endoteline. Consecinţele acestor

Scanned with OKEN Scanner

efecte sunt scăderea capacității vasodilatatoare și favorizarea ischemiei. IECA par să antagonizeze aceste efecte atât prin reducerea producției locale de Ang II, cât și prin creșterea nivelului bradikininei și al NO.

Observații recente efectuate de Remme la pacienți cu CI au arătat că ischemia miocardică produsă prin tahicardie indusă de electrostimulare este asociată cu o activare neurohormonală tranzitorie care include epinefrina, norepinefrina și Ang II, toate cu efect vasoconstrictiv coronarian. Acest efect este cu atât mai intens cu cât ischemia este mai severă și asociată cu disfuncție de VS. Repetarea electrostimulării după administrare acută de enalapril sau perindopril reduce intensitatea atât a răspunsului ischemic, cât și a celui neurohormonal [181]. Semnificația clinică a acestor observații este încă neclară, dar ele sugerează că IECA ar putea avea un efect „antiischemic" la coronarieni.

Observațiile experimentale și clinice menționate pot părea speculative și fără un suport suficient de solid pentru a extinde utilizarea IECA la un număr foarte mare de pacienți fără IC sau HA. Analiza rezultatelor trialurilor SAVE și SOLVD (tabelul 6.9.) au arătat însă că pe lângă reducerea remodelării și a IC, IECA au produs o scădere cu aproximativ 24% a recidivelor de IM și a altor evenimente coronariene. Aceste efecte au devenit manifeste după 12 luni de tratament, nu au fost corelate cu disfuncția VS și nu au putut fi explicate prin acțiunea IECA asupra remodelării VS. Scăderea incidenței evenimentelor coronariene poate fi însă explicată printr-un efect „antiischemic" și de reducere a progresiei aterosclerozei al IECA [182]. Argumentele clinice oferite de aceste trialuri au făcut ca efectele „antiaterosclerotice" ale IECA, sugerate de studiile experimentale și clinice anterioare, să fie suficient de probabile pentru finanțarea și organizarea de trialuri clinice mari. Ca urmare, în prezent se derulează mai multe trialuri în care au fost recrutați zeci de mii de pacienți și în care se testează următoarele ipoteze legate de implicațiile inhibitorilor enzimei de conversie, rezumate de Opie [34] și Pepine [182] astfel:

– reducerea evenimentelor coronariene majore la pacienți cu CI stabilă și cu funcție sistolică VS păstrată (trialurile EUROPA și PEACE cu perindopril și respectiv trandolapril);
– scăderea AVC și a altor evenimente cardiovasculare majore la pacienți cu accident vascular cerebral în antecedente (trialul PROGRESS cu perindopril) sau fără astfel de accidente, dar cu risc cardiovascular crescut (trialurile HOPE și ALLHAT cu ramipril și respectiv lisinopril);
– prevenirea recurenței evenimentelor ischemice miocardice majore la pacienți coronarieni tratați cu dilatare transluminală cu balon (trialul QUIET cu quinapril).

Scanned with OKEN Scanner

Pe lângă aceste trialuri se derulează şi altele, cu structură şi complexitate variată, dar cu obiective în general asemănătoare.

Rezultatele acestor trialuri au fost aşteptate începând din anul 2000. Trialul HOPE a fost terminat însă mai repede, fiind întrerupt de comitetul independent de supraveghere din motive etice: pacienţii trataţi activ au avut o evoluţie mai favorabilă decât cei sub placebo. În acest trial au fost recrutaţi de 9297 pacienţi fără IC (FE>40%), dar cu risc crescut de evenimente cardiovasculare produse de ateroscleroză sau de microangiopatia diabetică: IM în antecedente, alte forme documentate de CI sau de arteriopatii periferice, AVC în antecedente şi diabet zaharat asociat cu cel puţin una din condiţiile asociate (HA, colesterol total peste 200 mg%, HDL colesterol sub 35 mg%, fumat, microalbuminurie sau boală vasculară documentată). Vârsta medie a fost 65,9 ani, iar HA a fost prezentă la 46,8% din pacienţi. Obiectivele studiului au fost cercetarea efectelor ramiprilului şi a vitaminei E versus placebo printr-un model 2x2, randomizat dublu orb, asupra mortalităţii şi morbidităţii cardiovasculare. În două substudii au fost cercetate complicaţiile diabetului (MICRO–HOPE) şi efectele a două doze de ramipril (2,5 mg şi 10 mg), cu şi fără asocierea vitaminei E, asupra progresiei aterosclerozei carotidiene evaluată ultrasonografic (substudiul SECURE). Rezultatele studiului sunt impresionante [183, 184]. Exceptând morţile necardiovasculare, toate obiectivele primare („end-points") au fost semnificativ reduse la pacienţii trataţi cu ramipril, cu următoarele procente:

– 16% mortalitatea globală (p=0,0035)
– 25% mortalitatea cardiovasculară (p=0,0007)
– 20% IMA (p=0,0005)
– 31% AVC („stroke") (p=0,0002)
– 22% end-point asociat (morţi cardiovasculare, AVC, IMA) (p=0,000002)

Pentru ultimul obiectiv este de notat că divergenţa curbelor de supravieţuire a survenit precoce, la 8 luni de tratament.

Dintre obiectivele secundare, reduceri semnificative de evenimente s-au observat pentru apariţia IC (-23%), stop cardiac (-37%), agravarea anginei (-11%) şi nevoia de proceduri de revascularizare (-12%). Efectele favorabile au fost notate la subgrupe prespecificate: sex, vârstă, prezenţa CI, a HA, diabetului zaharat, antecedente de AVC etc.

Substudiul „MICRO – HOPE" a arătat aceleaşi avantaje la diabetici, care au avut mai puţine complicaţii, inclusiv microalbuminurie, iar în substudiul SECURE a arătat că ramiprilul reduce progresia aterosclerozei, dar numai în doze „mari" de 10 mg. Asocierea vitaminei E nu a oferit nici un avantaj clinic. Analiza rezultatelor arată că tratarea timp de 4 ani a 1000 de pacienţi cu risc cardiovascular din categoria recrutată în studiu, previne

Scanned with OKEN Scanner

160 de evenimente majore. Rezultatele acestui studiu constituie prima confirmare pe scară largă a efectelor unui IECA în prevenirea complicaţiilor aterosclerozei şi a diabetului şi implicit a rolului SRA în ateroscleroză.

Ca urmare, este de aşteptat ca ramiprilul şi probabil alţi IECA în curs de cercetare să devină o medicaţie de rutină şi la pacienţi fără HA sau IC, dar cu risc de complicaţii ale aterosclerozei, iar utilizarea IECA în acest scop să constituie o măsură de prevenţie secundară foarte eficientă.

Pe de altă parte, rezultatele trialului HOPE constituie un alt exemplu de valorificare în clinică a cercetării fundamentale, în sensul de contribuţie la reducerea morbidităţii şi mortalităţii legate de ateroscleroză, şi în acelaşi timp vor constitui un stimulent ştiinţific şi pentru suport financiar al continuării cercetării fundamentale în acest domeniu.

Bibliografie:

1. Pfeffer M.A., Braunwald E., et al. N. Engl. J. Med., 1992, 327, 669–677.
2. The SOLVD Investigators. N. Engl. J. Med., 1992, 327, 685–691.
3. Cohn J.N., Johnson G., et al. N. Engl. J. Med., 1991, 325, 303–310.
4. Domanski M.J., Exner D.V., et al. J. Am. Coll. Cardiol., 1999, 33, 598–604.
5. The Task Force on Heart Failure of the European Society of Cardiology. Guideline for the diagnosis of heart failure. Eur. Heart J., 1995, 16, 741–751.
6. ACC/AHA Task Force Report. ACC/AHA Guideline for the management of patients with valvular heart disease. J. Am. Coll. Cardiol., 1998, 32, 1486–1588.
7. The Task Force of The European Society of Cardiology. Guideline for the treatment of heart failure. Eur. Heart J., 1997, 18, 736–753.
8. Cristodorescu R., Apetrei E., Bruckner I., Câmpeanu Al., Datcu M., Gherasim L., Macarie C., Olinic N., în Ghiduri de practică medicală, vol. I. Coordonator L. Gherasim. Ed. Infomedica Bucureşti, 1999, p. 1.
9. Guideline Subcommittee. 1999 World Health Organisation-International Society of Hypertension Guideline for the Management of Hypertension. J. Hypertens., 1999, 17, 151–183.
10. The Sixth Report of The Joint National Committee on prevention, detection, evaluation and treatment of high blood pressure. N.I.H. Publication, No. 98–4080, November 1997.
11. Packer M., Cohn J.N. Am. J. Cardiol., 1999, 83, 1A–38A.
12. Cohn J.N., Ferrari R., Sharpe N. J. Am. Coll. Cardiol., 2000, 35, 569–582.
13. Cohn J.N. Symposium Summary. ACC Conference, March 6, New Orleans, 1999, Grey Health Care West Ed., 1999, 2–4.
14. Gilst W.H., Kingma J.H., în „Rimodellamento ventricolare sinistro dopo infarto miocardico acuto". M.G. St. John Sutton Ed. Science Press, London, 1996, p. 77.
15. Marcus F.I., Opie L.H., Sonnenblick E.H., Chatterjee K. In „Drug for the heart", 4th Ed. L.H.Opie Ed. W.B.Saunders Co, Philadelphia, 1995.
16. Packer M.J., Am. Coll. Cardiol., 1992, 20, 248–254.
17. Packer M. Am. J. Cardiol., 1993, 71, 3C–11C.
18. Kiowski S. RESEARCH Trial (Research on Endothelin-Antagonist in Chronic Heart Failure). Progress in The Treatment of Heart Failure, Hughes Associates, Hooper House, Oxford, 1999.

Scanned with OKEN Scanner

170.Bakris G.L., Weir M., et al. J. Am. Soc. Nephrol., 1996, 9, 1546.
171.Bloom B.S. Clin. Ther., 1998, 70, 1–11.
172.Gherasim L., Apetrei E., Carp C., Ciocâlteu A., Cristodorescu R., Datcu G., Dorobanţu M., Ionescu-Târgovişte C. În: Ghiduri de Practică Medicală, vol. I. Coordonator L. Gherasim. Ed. Infomedica Bucureşti, 1999, p. 41.
173.Lüscher T.F., Wenzel R.R., et al. in: „Combination Drug Therapy for Hypertension", L.H. Opie, F.H. Messerli Eds., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, New York, 1997, p. 91.
174.McInnes G. Angiotensin II Antagonists. Scientific Press, London, 1998.
175.Holwerda N.J., Fogari N., et al. J. Hypertens., 1996, 14, 1147–1151.
176.Hall J., Marbury T., et al. J. Clin. Res., 1998, 1, 147–159.
177.Thürmann P.A., Kendi P., et al. Circulation, 1998, 2037–2042.
178.Siskovick D., Ragahunathan T., Psaty B., et al. N. Engl. J. Med., 1994, 330, 1852–1857.
179.Chamberlain D.A. in: „Management of Acute Myocardial Infarction". D. Julian, E. Braunwald Eds., W.B. Saunders Co, London, 1994, p. 193.
180.Dzau V.J. Eur. Heart J., 1998, 19 (Suppl. J), J2–J6.
181.Remme W.J. Eur. Heart J., 1998, 19 (Suppl. J), J16–J23.
182.Pepine C.J. Eur. Heart J., 1998, 19 (Suppl. G), G34–G40.
183.The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. N. Engl. J. Med., 2000, 342, 145–153.
184.Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study Investigators. Lancet, 2000, 355, 253–259.
185.Conlin P.R., Spence J.D., et al. Am. J. Hypertens., 2000, 13, 418–426.
186.The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators. Lancet, 1993, 342, 821–828.
187.Ambrosini E., Borghi C., Magnani B. N. Engl. J. Med., 1995, 332, 80–85.
188.Torp-Pedersen C., Kober L., Carlsen J. The TRACE Study Group. Am. Heart J., 1996, 132 (Suppl. 2), 235–243.
189.Cristodorescu R. Rev. Rom. Cardiol., 2000, 11, 83–90.

ANEXĂ

Acronimele trialurilor clinice multicentrice menţionate în text şi denumirea lor completă

AIRE	–	The Acute Infarction Ramipril Efficacy
ALLHAT	–	Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial
ATLAS	–	Assessment of Treatment with Lisinopril and Survival
ANZ	–	Australia/New Zealand (ANZ) Heart Failure Research Collaborative Group
CAPPP	–	Captopril Prevention Project
CHARM	–	Candesartan cilexitil in Heart Failure. Reduction in Mortality and Morbidity
CIBIS II	–	The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study II
CONSENSUS	–	Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study
DIG	–	The Digitalis Investigation Group Study
ELITE	–	Evaluation of Losartan in the Elderly
ELITE II	–	The Losartan Heart Failure Survival Study

Scanned with OKEN Scanner

EUROPA	–	European Trial of Reduction of Cardiac Events with Perindopril in Stable Coronary Artery Disease
GISSI – 3	–	Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico
HOPE	–	Heart Outcomes Prevention Evaluation Trial
HOT	–	Hypertension Optimal Treatment Study
ISIS – 4	–	Fourth International Study of Infarct Survival
LIFE	–	Losartan Intervention for Endpoint Reduction in Hypertension
MERIT – HF	–	Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in Heart Failure
MHFT	–	Munich Mild Heart Failure Trial
NETWORK	–	Clinical Outcome with Enalapril in Symptomatic Heart Failure
PEACE	–	Prevention of Events with ACE Inhibitors Study
PEP – CHF	–	Perindopril for Elderly People with Chronic Heart Failure
PROGRESS	–	Perindopril Protection against Recurrent Stroke Study
PROTECT	–	Perindopril Regression of Vascular Thickening European Community Trial
QUIET	–	Quinapril Ischemic Event Trial
RALES Safety	–	Randomised Aldactone Evaluation Study
RALES Mortality	–	Randomised Aldactone Evaluation Study
SAVE	–	Survival and Ventricular Enlargement Study
SOLVD Prevention	–	Study of Left Ventricular Dysfunction
SOLVD Treatment	–	Study of Left Ventricular Dysfunction
SMILE	–	Survival of Myocardial Infarction Long-Term Evaluation
VAL – HeFT	–	The Valsartan Heart Failure Trial
VHeFT I	–	Vasodilator – Heart Failure Trial I
VHeFT II	–	Vasodilator – Heart Failure Trial II

Autorul mulţumeşte călduros colectivului care a colaborat la tehnoredactarea acestui capitol:

- Dr. Adrian Vlad
- Dr. Dan Dărăbanţiu
- Dr. Daniel Lighezan
- Dr. Istvan Gyalai
- Dr. Ruxandra Christodorescu
- Laura Vuletici

Clinica de Cardiologie – ASCAR, Spitalul Municipal, U.M.F. Timişoara

Scanned with OKEN Scanner

7. TENDINȚE ACTUALE ÎN STUDIUL SISTEMULUI RENINĂ-ANGIOTENSINĂ

Clasic, se consideră că majoritatea efectelor biologice ale sistemului renină-angiotensină sunt realizate prin intermediul Ang II. Deşi s-a crezut că Ang II acționează numai ca un hormon clasic, există multiple dovezi care susțin existența unor sisteme renină-angiotensină locale (inclusiv vascular), relativ independente de sistemul circulant. Izoenzime reninice au fost descrise în mai multe țesuturi, alături de o serie de căi alternative pentru generarea peptidelor angiotensinice.

Cuplarea Ang II (din circulația sistemică sau produsă local) cu receptorul specific plasmalemal de tip AT_1 determină internalizarea rapidă a acestuia. Endocitoza receptorilor, sau internalizarea, este o caracteristică generală a receptorilor membranari, realizată prin mecanisme veziculare [1]. Proteinele de la suprafața celulelor se pot internaliza prin intermediul veziculelor coafate de clatrină [2], caveolelor [3] sau veziculelor necoafate [4]. Internalizarea mediată de veziculele coafate de clatrină reprezintă mecanismul major de endocitoză a receptorilor cuplați cu proteinele G [1] (fig 7.1). Studiile ultimilor ani au sugerat că rolul major al proceselor de internalizare este resensibilizarea receptorilor, după ce aceştia au transmis mesajul celulei, prin fosforilările induse de agonişti [5]. Internalizarea direcționează receptorul către compartimentele intracelulare în care receptorul este defosforilat de către fosfataze. Procesul de defosforilare este dependent de acidifierea endozomilor [6].

7.1. RECEPTORII MEMBRANARI ŞI ROLUL LOR ÎN TRANSLOCAREA ŞI INTERNALIZAREA COMPLEXULUI ANGIOTENSINĂ-RECEPTOR

După cum se ştie, receptorii angiotensinici AT_1 prezintă o structură cu 7 domenii trans-membranare (figura 5.7.), asemănătoare multor receptori cuplați cu proteinele G. Internalizarea rapidă a receptorului AT_1 este independentă de activarea proteinelor G, dar strâns dependentă de prezența unui domeniu bogat în serină şi treonină la nivelul capătului citoplasmatic al receptorului [7,8]. Internalizarea complexului ligand-receptor este considerată a fi extrem de importantă pentru desensibilizarea şi reciclarea receptorilor pentru angiotensină. Totuşi, după alți autori, desensibilizarea

Scanned with OKEN Scanner

receptorului angiotensinic de tip AT_1 nu necesită obligatoriu endocitoza (internalizarea) receptorului şi cuplarea cu proteinele G [9].

Acest proces poate contribui însă şi la generarea unui semnal celular susţinut de către stimularea AT_1 sau/şi la acumularea intracelulară a angiotensinei.

Sechestrarea Ang II în variate tipuri de celule de tip vascular şi cardiac, suprarenalian şi renal, care exprimă niveluri mari de receptor angiotensinic AT_1, ar permite nu numai acumularea, dar şi acţiuni intracrine ale acesteia [10].

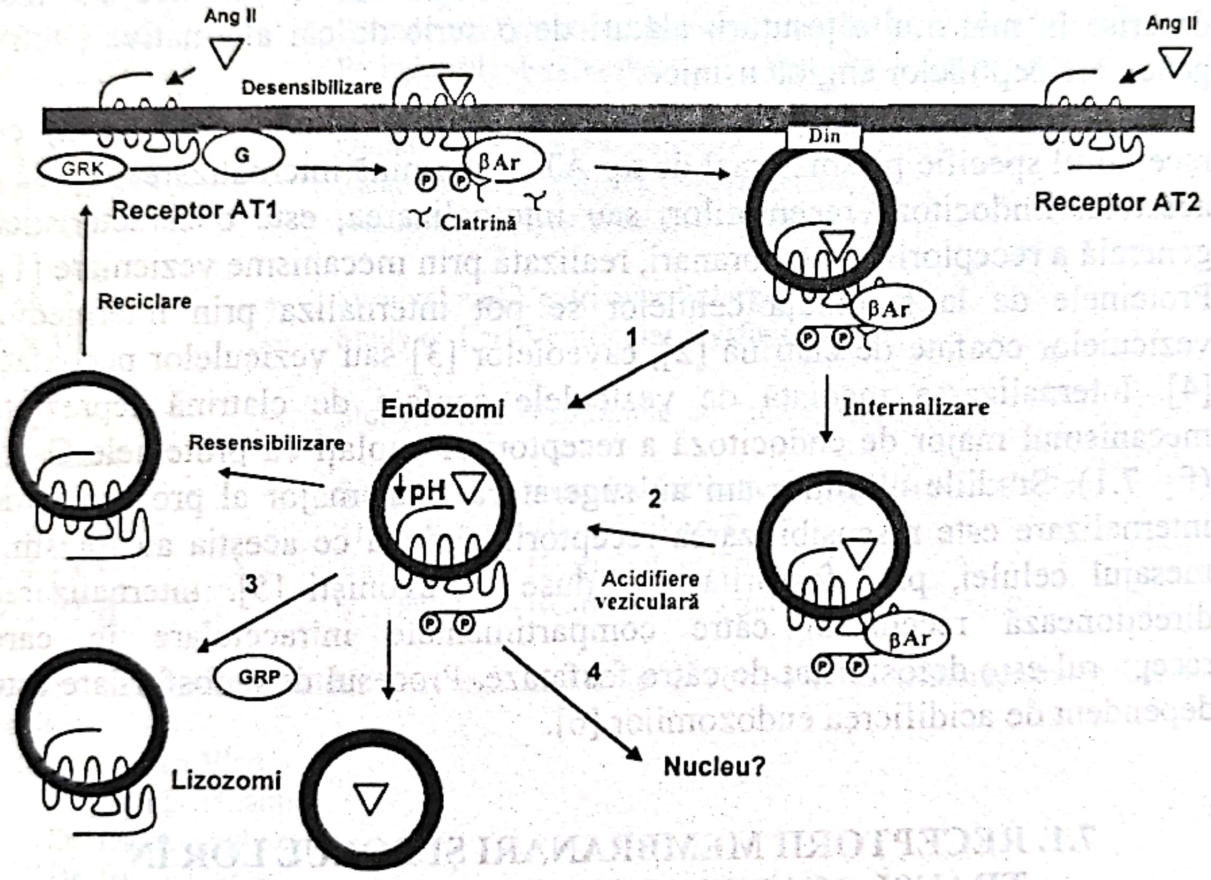


Figura 7.1 Reprezentarea schematică a internalizării receptorilor angiotensinici [modificată după 7 şi 5].

Internalizarea complexului agonist-receptor în endozomi este dependentă de clatrină, dinamină (Din) şi β-arestină (βAr) şi poate fi etapă importantă a procesului de resensibilizare a receptorului [1]. În mod alternativ, receptorii angiotensinici se disociază de β-arestină în comparti-mentele intracelulare, fiind defosforilaţi şi reciclaţi [2], reţinuţi în vezicule mari şi/sau distruşi în lizozomi [3] sau dirijaţi către nucleu. G = proteine G; GRK = kinazele receptorilor cuplaţi cu proteinele G; GRP = fosfatazele receptorilor cuplaţi cu proteinele G.

Scanned with OKEN Scanner

Monocitele umane sintetizează angiotensinogen [11] şi conţin Ang I şi cantităţi mari de Ang II [12]. Transformarea monocitelor în macrofage la nivel tisular se asociază cu o intensificare a activităţii enzimei de conversie a Ang I şi pentru acest motiv macrofagele din leziunile aterosclerotice conţin cantităţi mari de Ang II intracelular. Macrofagele sunt prezente în totalitatea leziunilor aterosclerotice şi legarea anticorpilor anti-Ang II pare a fi colocalizată cu macrofagele. În acelaşi timp, coronarele umane aterosclerotice (obţinute intraoperator) prezintă aproximativ aceeaşi colocalizare a macrofagelor şi Ang II. Regresia leziunilor de ateroscleroză prin întreruperea dietei aterosclerotice la maimuţe determină reducerea cantitativă atât a macrofagelor, cât şi a legării anticorpilor anti-Ang II. Celulele endoteliale ale arterelor coronare şi aortei obţinute de la maimuţele *cynomolgus* normale nu leagă anticorpi policlonali pentru Ang II [13]. Toate secţiunile obţinute de la maimuţele cu ateroscleroză indusă prezintă însă regiuni discrete, localizate, ce leagă anticorpii policlonali pentru Ang II la nivelul intimei şi mediei.

Captarea Ang II de către celulele endoteliale şi miocitele netede şi cardiace a fost observată cu mult timp în urmă [14,15]. După injectarea intravenoasă a agonistului la animalele utilizate radioactivitatea asociată Ang II a fost predominant localizată perinuclear. Mai târziu, prin utilizarea microscopiei electronice de transmisie şi a Ang II legată de particule de aur (o metodă mult mai sensibilă) nu s-a reuşit să se evidenţieze prezenţa Ang II nici în nucleul şi nici la nivelul aparatului Golgi al celulelor musculare netede aortice de şobolan în cultură [16]. Chiar şi în explanturile de musculatură netedă vasculară aortică de şobolan particulele de aur ataşate de Ang II sunt numai sporadic regăsite în regiunile perinucleare, după incubare timp de 90 de minute la 37°C, fără însă a reprezenta o caracteristică generală [17]. Astfel, s-a verificat acumularea ligandului, după legarea agonistului de receptorul specific, în mici vezicule coafate (receptozomi), care se internalizează rapid. Aceste mici vezicule fuzionează apoi (20 de minute) pentru a forma endozomi. După o oră de incubare particulele de aur au fost găsite în vezicule asemănătoare lizozomilor şi vezicule mici non-lizozomale, profund intracelular. Aceste procese endocitotice au fost blocate de pre-tratamentul cu losartan, demonstrând rolul receptorului AT_1 în internalizarea angiotensinei.

În miocitele cardiace de şobolan receptorii angiotensinici de tip AT_1 se regăsesc după internalizarea complexului format cu Ang II în sarcolemă, tubulii T şi nuclei [18]. Ang II internalizată poate fi degradată sau poate induce efecte intracelulare. Astfel, Ang II se poate lega de un situs nuclear [19] de mare afinitate cromatinic, cu inducerea consecutivă de modificări conformaţionale ale cromatinei [20]. O altă proteină de 78 kDa, solubilă, de legare cu mare afinitate pentru Ang II este prezentă în citosolul celulelor cardiace neonatale de şobolan [21]. Toate aceste date sugerează existenţa

Scanned with OKEN Scanner

unui receptor funcţional intracelular pentru Ang II în miocitele cardiace, asemănător receptorului angiotensinic de tip AT_1 plasmalemal, deşi nu există dovezi în acest sens [22]. Studii recente arată că Ang II induce apoptoza miocitelor ventriculare neonatale de şobolan în cultură prin activarea receptorilor angiotensinici de tip AT_1 şi a PKC [23]. Deoarece p53 creşte expresia angiotensinogenului în acest tip de celule, se sugerează că p53 induce apoptoza prin stimularea eliberării de Ang II din miocite şi activarea consecutivă a receptorului AT_1 plasmalemal (acţiune autocrină). Totuşi, apoptoza poate fi asociată şi activării receptorului angiotensinic de tip AT_2, prin formarea mesagerului său secund, ceramida [24]. Apoptoza este un fenomen frecvent asociat stres-ului mecanic de întindere. Stresul mecanic de întindere induce o creştere de aproximativ 100 de ori a concentraţiei Ang II în mediul de cultură al cardiomiocitelor fără ser bovin [25]. Ang II din mediu pare a avea originea în depozite intracelulare deoarece captoprilul nu o influenţează şi nu este însoţită de eliberare de Ang I. Utilizarea microscopiei electronice şi a anticorpilor specifici sugerează existenţa unor structuri asemănătoare granulelor secretorii ce conţin Ang II în cardiomiocitele ventriculare. Aceste structuri nu sunt găsite constant, însă Ang II intracelulară este localizată în regiunea perinucleară a cardiomiocitelor neonatale de şobolan şi a fibroblastelor [26]. Eliberarea peptidelor angiotensinice în mediul de cultură fără ser de către cardiomiocite este remarcabilă deoarece acest tip celular nu sintetizează renină sau angiotensinogen în cantităţi remarcabile [27]. O explicaţie plauzibilă ar fi reprezentată de sechestrarea intracelulară de renină şi/sau angiotensinogen din mediul de cultură conţinând ser bovin.

Administrarea Ang II marcate *in vivo* a arătat că aceasta se leagă iniţial de suprafaţa celulelor suprarenalei, apoi se regăseşte în veziculele coafate şi ulterior este internalizată cu acestea şi transportată în lizozomi în aproximativ 20 de minute [28]. În aceste condiţii, se presupune că Ang II nu este generată în celulele glomerulatei suprarenale, fiind deci rezultatul internalizării acesteia [29]. Pe de altă parte, Ang II marcată a fost găsită în aparatul Golgi al celulelor secretoare de norepinefrină din medulosuprarenală [30].

Acumularea (internalizarea) angiotensinei în celulele ţesuturilor care conţin receptori AT_1 este extrem de bine documentată în momentul de faţă [10,31]. Administrarea cronică (timp de 13 zile) de Ang II în doză mică (40 ng/min.), cu ajutorul unei minipompe osmotice subcutanate la şobolani, determină hipertensiune arterială încă din ziua a şasea, dar şi creşterea semnificativă (din ziua a zecea) a nivelurilor intrarenale ale Ang II [31]. În aceleaşi condiţii, conţinutul cardiac şi suprarenal de Ang II nu se modifică. În plus, concentraţia de Ang II intrarenală exprimată în femtomoli pe gram este mai mare decât concentraţia plasmatică exprimată în femtomoli pe mililitru, fapt ce sugerează că angiotensina intrarenală nu poate fi explicată

Scanned with OKEN Scanner

doar prin acumularea extracelulară nespecifică a angiotensinei circulante. În contrast cu creşterea marcată a concentraţiei plasmatice a Ang II, la şobolanii trataţi cu losartan concentraţia intrarenală de Ang II nu a crescut. Astfel, apare evident faptul că activarea receptorilor angiotensinici AT_1 (majoritari la nivel renal) mediază nivelurile crescute intrarenale ale Ang II şi sugerează încă o dată că acumularea peptidului nu este urmarea unei sechestrări nespecifice din circulaţie. Internalizarea Ang II ar fi urmată de acumularea acesteia într-un compartiment intracelular protejat împotriva degradării şi metabolizării, consecutiv cuplării cu receptorul AT_1.

Imunohistochimia a fost utilizată într-o serie de experimente vizând dinamica populaţiei de receptori angiotensinici AT_1 în linia celulară A7r5, derivată din aorta toracică a embrionului de şobolan [32]. Această linie celulară nu exprimă în mod natural receptori de tip AT_1, aceştia putând însă fi studiaţi prin exprimarea unor receptori recombinanţi. Marcarea receptorilor se face cu anticorpi anti-epitop HA, încorporat în receptorii recombinanţi. Tratarea celulelor A7r5 în cultură numai cu vehicul arată o distribuţie preponderentă a anticorpilor de marcare la periferia celulelor, fapt ce atestă prezenţa receptorilor AT_1 exprimaţi la nivelul membranei celulare. La cinci minute după tratamentul cu Ang II, numărul receptorilor AT_1 de la nivelul structurilor periferice celulare se reduce semnificativ. Aceasta echivalează cu o stimulare rapidă şi profundă a internalizării receptorilor AT_1 sub acţiunea Ang II. În mod sigur, internalizarea netă a acestora este continuă atâta timp cât agonistul este prezent în mediul extracelular. La 60 de minute după tratamentul cu Ang II, aproape toţi anticorpii de marcare sunt prezenţi în jurul nucleului şi doar o cantitate foarte mică este regăsită la nivelul suprafeţei celulare. La 4 ore după administrarea Ang II, deşi marcarea perinucleară persistă, aceasta redevine evidentă la nivelul membranei celulare, indicând re-expresia receptorilor membranari, care este totală după 10 ore. Astfel, dacă nu se alterează metabolismul ARNm, atunci acesta reprezintă sursă continuă de proteină receptoare sintetizată *de novo*, capabilă a fi inserată în membrană. Receptorii astfel distribuiţi pot fi internalizaţi imediat, în condiţiile în care agonistul este prezent la suprafaţa celulei. Practic, la un moment dat, starea de echilibru a unui astfel de sistem este rezultatul balanţei între rata de sinteză proteică şi rata cu care receptorul internalizat este distrus. În plus, nivelul ARNm pentru receptorii AT_1 pare a fi în mod clar mult mai sensibil la variaţiile de concentraţie ale Ang II extracelulare, comparativ cu nivelul receptorilor exprimaţi la nivelul membranei celulare. Luate împreună, aceste date demonstrează faptul că celulele posedă o capacitate deosebită de refacere cantitativă a receptorilor AT_1 membranari imediat după începerea internalizării, capacitate prezentă chiar în condiţiile unei internalizări prelungite. Procesul este în mod absolut dependent de menţinerea nivelurilor ARNm pentru AT_1. Totuşi, aceste

Scanned with OKEN Scanner

experimente nu precizează care populaţie de receptori este exprimată la nivelul membranei celulare după internalizare. Aceştia ar putea fi receptori internalizaţi şi reciclaţi, dar şi proteine noi care niciodată nu au fost exprimate pe suprafaţa celulară. Chiar dacă nu se poate exclude fenomenul de reciclare, el este considerat mai puţin probabil. Primul argument adus împotriva reciclării ar fi reprezentat de lipsa încorporării în vezicule sau a acumulării receptorilor AT_1 marcaţi în apropierea membranei celulare la scurt timp după stimularea celulelor cu Ang II. Din contră, receptorii AT_1 marcaţi par a lipsi masiv de la nivelul structurilor periferice celulare. Dacă reciclarea explică externalizarea, receptorii fac însă un drum lung, până în apropierea nucleilor, înainte de a se reîntoarce în membrană. Experimentele care au încercat coimunolocalizarea, pentru a determina dacă receptorii marcaţi, prezenţi perinuclear (aproape în totalitate după o oră de la stimulare), se găsesc în structuri lizozomale, au fost neconcludente.

Alt argument împotriva reciclării este reprezentat de reducerea conţinutului total celular de receptori AT_1 cu ~25 % la o oră după tratamentul cu Ang II. Autorii postulează că această reducere reprezintă de fapt fracţiunea receptorilor exprimaţi la nivelul membranei celulare în acest interval, internalizarea receptorilor fiind imediat urmată de distrugerea acestora. Se sugerează astfel faptul că receptorii marcaţi, prezenţi masiv perinuclear, ar reprezenta de fapt o masă proteică translată de curând şi asociată cu poliribozomii sau aflată la nivelul căilor iniţiale de sortare în vederea externalizării.

Internalizarea Ang II, mediată şi total dependentă de internalizarea complexului format cu receptorii proprii de tip AT_1, o protejează de degradarea de către peptidazele endoteliale, fapt care explică timpul de înjumătăţire mai lung pentru Ang II internalizată, comparativ cu hormonul circulant [10].

Întrebarea care se pune este dacă internalizarea complexului angiotensină-receptor AT_1 deţine rol important în procesele mediate de Ang II. Legarea Ang II de receptorul AT_1 necesită mai multe puncte de contact şi induce conformaţia de mare afinitate a receptorului pentru agonist, astfel încât disocierea ligandului reprezintă un proces relativ lent.

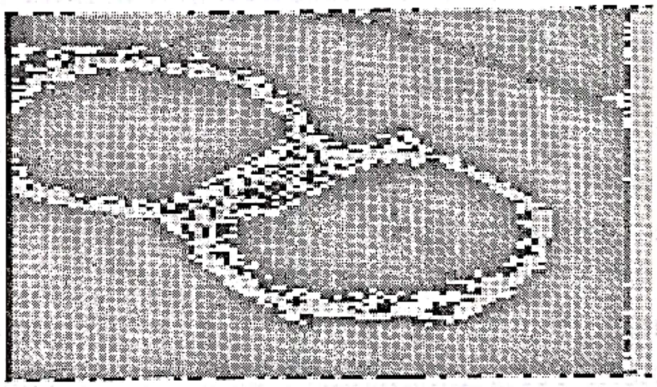
Acidifierea veziculelor endocitate pare să accelereze disocierea ligandului de receptorul AT_1 [33], iar receptorul este reciclat către membrana celulară într-o conformaţie de mică afinitate [34]. Pentru urmărirea traficului subtipurilor de receptori angiotensinici în celulele embrionare umane renale (HEK) tip 293 s-au utilizat receptorii AT_{1a} şi AT_2 de şoarece având ataşat epitopul DYKDDDD la capătul amino, extracelular, şi Ang II cuplată cu fluoresceina [33]. Proprietăţile acestor receptori combinaţi cu epitopul extern (de legare a agonistului, de stimulare a Ca^{2+} intracelular, de inducere a formării IP_3 şi de desensibilizare) sunt identice cu

Scanned with OKEN Scanner

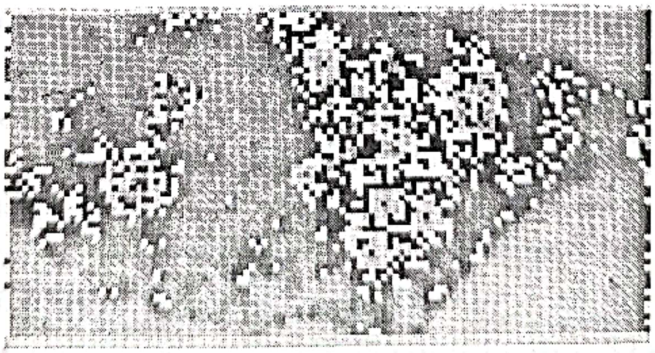
cele ale receptorilor nativi AT_{1a}. Nici ataşarea epitopului la capătul amino extern al subtipului de receptori AT_2 nu modifică nivelurile de expresie sau proprietăţile de legare a agonistului.

Localizarea la nivel celular a receptorilor de tip AT_{1a} şi AT_2 a fost posibilă după utilizarea microscopiei laser confocală. Subtipul de receptori AT_{1a} a fost detectat în plasmalemă. De asemenea, o cantitate mult mai mică de receptori AT_{1a} a fost găsită în vezicule intracelulare în celulele permeabilizate. Semnificaţia funcţională a acestor depozite intracelulare de receptori rămâne de stabilit. Receptorii AT_2 sunt localizaţi numai la nivelul membranei celulare.

Stimularea cu 1 μM Ang II sau cu Ang II legată cu izotiocianat de fluoresceină (FITC), timp de 10 minute, determină internalizarea receptorilor plasmatici de tip AT_{1a} în vezicule mici intracelulare (figura 7.2.). În schimb, receptorii AT_2 nu sunt internalizaţi după stimularea cu Ang II sau Ang II FITC, nici dacă procedeul se prelungeşte până la 2 ore.



A



B

Figura 7.2. Receptorii angiotensinici de tip AT_{1a} sunt localizaţi la nivelul plasmalemei celulelor umane HEK 293 în lipsa Ang II (A). 1 μM FITC-Ang II induce internalizarea receptorului în vezicule intracelulare la 10 minute după administrare (B) [după 33, schematizată].

Scanned with OKEN Scanner

Pentru a urmări traficul intracelular al Ang II (sau Ang II FITC) şi receptorilor AT_1, celulele sunt incubate în prezenţa markerilor fluorescenţi de endocitoză. Este cunoscut faptul că transferina cuplată cu Texas Red (TR-transferina) este utilizată pentru traficul endozomal, iar ovalbumina cuplată cu Texas Red (TR-ovalbumină) pentru evidenţierea căii lizozomale.

În acest mod s-a observat că la 10 minute după începerea stimulării cu agonist, receptorii AT_{1a} internalizaţi sunt parţial colocalizaţi cu TR-transferina endocitată (proces mediat de clatrină), ceea ce dovedeşte internalizarea AT_{1a} în endozomi. Procesul este reversibil întrucât îndepărtarea Ang II din mediul extracelular duce la reciclarea receptorilor către membrană după aproximativ 50 de minute. TR-transferina este însă regăsită în endozomi (vezicule intracelulare) şi după îndepărtarea completă a Ang II din mediu. În schimb, Ang II FITC persistă în veziculele intracelulare şi după 50 de minute de la îndepărtarea Ang extracelulare. Numai o parte dintre aceste vezicule conţinând Ang II FITC sunt şi transferin-pozitive, sugerând că traficul intracelular post-endozomal este diferit pentru Ang II şi transferină. În acelaşi timp, o parte importantă a veziculelor intracelulare ce conţin Ang II FITC sunt pozitive şi pentru TR-ovalbumină la 50 de minute după îndepărtarea agonistului din mediu. Această constatare sugerează că Ang II este direcţionată către lizozomi. Se pare deci că receptorii AT_{1a} sunt reciclaţi către plasmalemă după internalizarea complexului cu agonistul, iar Ang II este transportată către lizozomi (figura 7.3).

În acest mod s-a observat că la 10 minute după începerea stimulării cu agonist, receptorii AT_{1a} internalizaţi sunt parţial colocalizaţi cu TR-transferina endocitată (proces mediat de clatrină), ceea ce dovedeşte internalizarea AT_{1a} în endozomi. Procesul este reversibil întrucât îndepărtarea Ang II din mediul extracelular duce la reciclarea receptorilor către membrană după aproximativ 50 minute. TR-transferina este însă regăsită în endozomi (vezicule intracelulare) şi după îndepărtarea completă a Ang II din mediu. În schimb, Ang II FITC persistă în veziculele intracelulare şi după 50 minute de la îndepărtarea Ang extracelulare. Numai o parte dintre aceste vezicule conţinând Ang II FITC sunt şi transferin-pozitive, sugerând că traficul intracelular post-endozomal este diferit pentru Ang II şi transferină. În acelaşi timp, o parte importantă a veziculelor intracelulare ce conţin Ang II FITC sunt pozitive şi pentru TR-ovalbumină la 50 de minute după îndepărtarea agonistului din mediu. Această constatare sugerează că Ang II este direcţionată către lizozomi. Se pare deci că receptorii AT_{1a} sunt reciclaţi către plasmalemă după internalizarea complexului cu agonistul, iar Ang II este transportată către lizozomi (figura 7.3).

Scanned with OKEN Scanner

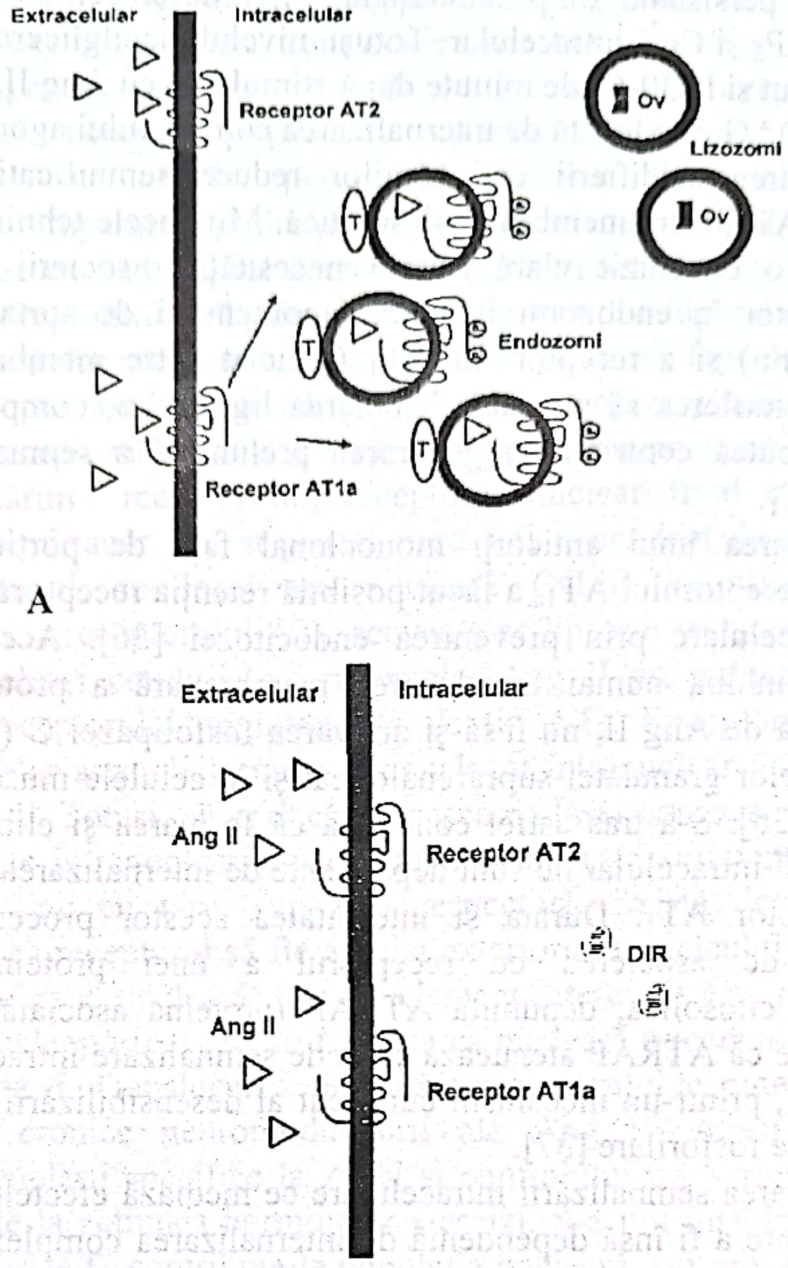


Figura 7.3. Schema prezenței și traficului receptorilor AT_{1a} și angiotensinei fluorescente în momentul stimulării (A) și la 10 minute după stimularea receptorilor specifici membranari (B). DIR= depozit de receptori AT_{1a} intracelulari (extrem de redus); T = transferină, Ov = ovalbumină [realizat după 33].

Endocitoza și reciclarea receptorilor către membrana celulară sunt procese ce continuă chiar dacă agonistul persistă în mediu. Internalizarea și reciclarea receptorilor AT_{1a} sunt procese dinamice și în echilibru permanent cu populația de receptori localizați membranar. Procesele de internalizare și reciclare par a fi independente de transducția semnalului biologic mediată

Scanned with OKEN Scanner

de receptor, persistând timp îndelungat după desensibilizarea căilor de semnalizare IP_3 şi Ca^{2+} intracelular. Totuşi, nivelul diacilglicerolului (DAG) rămâne crescut şi la 30-60 de minute după stimularea cu Ang II, sugerând că acumularea DAG este legată de internalizarea complexului agonist-receptor.

Inhibarea acidifierii endozomilor reduce semnificativ reciclarea receptorilor AT_{1a} către membrana plasmatică. Mijloacele tehnice actuale nu permit însă o concluzie clară asupra necesităţii disocierii complexului agonist-receptor în endozomi înaintea fenomenului de sortare a Ang II (către lizozomi) şi a receptorului AT_1 (reciclat către membrana celulei). Înainte ca acidifierea să producă disocierea ligandului, complexul ligand-receptor ar putea contribui la generarea prelungită a semnalului celular mediat de AT_1.

Utilizarea unui anticorp monoclonal faţă de porţiunea amino-terminală a receptorului AT_{1a} a făcut posibilă retenţia receptorului la nivelul membranei celulare prin prevenirea endocitozei [36]. Acelaşi anticorp monoclonal inhibă numai translocarea membranară a proteinkinazei C (PKC) indusă de Ang II, nu însă şi activarea fosfolipazei C (PLC), atât la nivelul celulelor granulatei suprarenale, cât şi în celulele musculare netede de şobolan [36]. S-a tras astfel concluzia că formarea şi eliberarea IP_3 şi creşterea Ca^{2+} intracelular nu sunt dependente de internalizarea complexului Ang II-receptor AT_1. Durata şi intensitatea acestor procese pare a fi dependentă de asocierea cu receptorul a unei proteine specifice, predominant citosolică, denumită ATRAP (proteina asociată receptorului AT_1). Se pare că ATRAP atenuează căile de semnalizare intracelulară post-receptor AT_1, printr-un mecanism cunoscut al desensibilizării receptorului, prin proces de fosforilare [37].

Activarea semnalizării intracelulare ce mediază efectele hipertrofice ale Ang II pare a fi însă dependentă de internalizarea complexului Ang II-receptor AT_1 [38]. Pe de altă parte, Ang II administrată intracelular modulează creşterea liniei celulare musculare netede A7r5 [39]. Sinteza de ADN, măsurată prin încorporarea [^{3}H]-timidinei, este crescută în manieră dependentă de doză de către Ang încorporată în lipozomi. În schimb, Ang II extracelulară nu modifică încorporarea [^{3}H]-timidinei. Aceste efecte intracelulare ale Ang II sunt inhibate prin administrarea intracelulară a antagoniştilor nepeptidici (losartan, faţă de tipul AT_1, şi PD123319, faţă de tipul AT_2) şi mult mai puţin de către antagonistul peptidic CGP42112A. Efectele intracelulare ale Ang II par a fi mediate în aceste circumstanţe de calea fosfatidil inozitol 3-kinazei (PI-3K) şi a protein kinazei activate de mitogeni (MAPK/ERK). Ang I intra- sau extracelulară nu are efecte inhibitorii asupra creşterii celulare.

Scanned with OKEN Scanner

Internalizarea şi traficul receptorului AT_1 membranar ar putea fi necesare de exemplu pentru translocarea acestuia în nucleu, aşa cum s-a demonstrat pentru neuronii centrali [40]. Ang II interacţionează cu receptorul AT_1 neuronal şi produce acţiunile sale neuromodulatorii prin creşterea expresiei genelor pentru transportorul norepinefrinei, tirozin hidroxilazei şi dopamin β-hidroxilazei. Aceste efecte mediate de receptorul AT_1 sunt asociate controlului central al tensiunii arteriale de către Ang II. Stimularea receptorului AT_1 de la nivelul neuronilor hipotalamici tineri în cultură primară duce la acumularea acestuia în nucleu, fapt demonstrat atât prin microscopie laser confocală, cât şi prin imunoprecipitare. Translocarea nucleară a receptorului AT_1 indusă de Ang II nu produce o modificare majoră a mărimii receptorului, receptorul nuclear fiind comparabil cu receptorul membranar. Acest proces pare a fi dependent de existenţa unei secvenţe semnal de localizare nucleară (NLS) la nivelul porţiunii citoplasmatice a receptorului AT_1, secvenţă ce lipseşte receptorului AT_2. De aceea, în aceleaşi condiţii experimentale, Ang II nu induce translocarea nucleară a receptorului angiotensinic de tip AT_2. Receptorul AT_1 de la nivelul celulelor astrogliale nu este translocat intranuclear după stimularea de către Ang II. Totuşi, chiar dacă microscopia laser confocală sugerează că receptorul este intranuclear, această tehnică nu este suficient de sensibilă pentru a susţine cu tărie supoziţia respectivă. Există deci o doză de probabilitate ca receptorul să fie asociat exteriorului nucleului (de exemplu, legat de membrana nucleară). Un alt element interesant este reprezentat de implicarea nucleoporinei p62 în focalizarea nucleară a receptorului tip AT_1, indusă de Ang II. Translocarea nucleară a receptorului ar putea fi implicată în acţiunile cronice neuromodulatorii ale Ang II. Acest proces este asemănător cuplării specifice la ADN şi controlului transcripţiei variatelor gene sensibile la acţiunea hormonilor steroizi. S-a ivit însă întrebarea care tip de receptori AT_1 contribuie la populaţia nucleară: cei prezenţi la nivelul plasmalemei neuronale sau cei prezenţi la nivelul compartimentului citoplasmatic? Cuplarea Ang II la receptorii AT_1 membranari activează şi calea de transducţie a semnalului biologic a kinazelor Ras-MAP, care fosforilează inclusiv receptorul. Receptorul astfel fosforilat este internalizat [41]. Acest fapt ar sugera că receptorul localizat la nivelul membranei neuronale ar fi translocat intranuclear, fapt susţinut şi de observaţia că atât receptorul AT_1 fosforilat, cât şi cel nuclear sunt lipsiţi de capacitate de legare a Ang II. Chiar în aceste circumstanţe, nu se poate exclude ipoteza translocării nucleare a receptorilor citosolici. Translocarea nucleară a receptorului AT_1 nu pare a fi singulară, ci o caracteristică a receptorilor cuplaţi cu proteinele G. De altfel, şi receptorii muscarinici umani M_1, M_3 şi M_{5A}, ca şi receptorul uman pentru factorul de activare plachetară (PAF),

Scanned with OKEN Scanner

conţin o secvenţă asemănătoare secvenţei semnal de localizare nucleară (NLS) la nivelul porţiunii citoplasmatice a receptorului respectiv.

7.2. RECEPTORII INTRACELULARI (NUCLEARI)

Translocarea nucleară a receptorului AT_{1a}, dependentă de Ang II, a fost pusă recent în evidenţă în celulele ovariene ale hamsterului chinezesc (CHO), utilizându-se o proteină de fuziune receptor tip AT_{1a}-GFP (*green fluorescent protein*) [42]. Astfel de proteine de fuziune pot fi urmărite la nivelul celulelor vii cu ajutorul microscopiei de fluorescenţă, prezentând şi marele avantaj al observării chiar în lipsa stimulului.

Caracteristicile funcţionale ale AT_{1a}R-GFP sunt similare celor ale AT_{1a}R nativ de şobolan în ceea ce priveşte cuplarea agonistului, sensibilitatea la agonist/antagonist, cuplarea cu proteinele G, activarea căilor de transducţie a semnalului biologic şi desensibilizarea. AT_{1a}R-GFP este în mod vizibil internalizat în CHO după stimularea acestora cu Ang II. În plus, stimularea celulelor cu Ang II determină acumularea fluorescenţei AT_{1a}R-GFP la nivelul nucleului, fapt evidenţiat prin microscopie laser confocală. În acest caz, fluorescenţa verde a AT_{1a}R-GFP se suprapune aproape perfect peste cea roşie indusă de rodamină sau TOTO-3, caracteristică nucleului. Concluzia studiului este că porţiunea AT_{1a}R a AT_{1a}R-GFP deţine rolul principal în translocarea nucleară a proteinei de fuziune. În acest mod se demonstrează încă o dată că receptorii angiotensinergici şi/sau ligandul specific se pot regăsi în nucleu. Totuşi, studiul nu prezintă argumente pentru sau împotriva translocării dependente de agonist a receptorilor specifici de la nivelul membranei celulare în nucleu, proces necesar efectului direct de inducere a expresiei genice de către AT_{1a}R, stimulat sau cuplat cu agonistul.

Administrarea intracelulară a Ang II fluorescente, prin microinjecţie la nivelul citoplasmei, induce acumularea intracelulară rapidă a acesteia în celulele musculare netede vasculare [43]. Microscopia laser confocală demonstrează că Ang II fluorescentă microinjectată se distribuie iniţial în tot citosolul, apoi este rapid captată în endozomi, proces urmat de stingerea semnalului fluorescent, datorată probabil modificărilor de pH de la acest nivel. În acelaşi timp, fluorescenţa asociată Ang II se acumulează în cantitate mare în nucleu.

Situsuri de legare pentru Ang II s-au pus în evidenţă şi în nucleii hepatocitelor utilizând agonistul marcat radioactiv (^{125}I-Ang II) [44,45].

Deşi receptorii nucleari pentru Ang II par a avea proprietăţi fizico-chimice diferite de cele ale receptorilor AT_1 membranari, legarea peptidului la nivelul nucleilor hepatici de şobolan este sensibilă la losartan, blocant al

Scanned with OKEN Scanner

receptorilor membranari [44,46]. Sensibilitatea la losartan a receptorilor nucleari pentru Ang II sugerează că aceştia sunt molecule înrudite cu receptorii AT_1 membranari. Relaţia acestor receptori intracelulari cu receptorii membranari şi rolul lor în acţiunile Ang II necesită însă clarificări ulterioare.

Importanţa funcţională a receptorilor nucleari a fost sugerată de studii asupra sintezei de ARN în nucleii izolaţi [47,38]. Tratarea nucleilor hepatici izolaţi cu Ang II induce transcripţia ARNm pentru renină şi angiotensinogen [38].

Chiar dacă o serie de ţesuturi şi linii celulare conţin imunoreactivitate pentru Ang II, sursa angiotensinei intracelulare, care să regleze receptorii intranucleari, nu este deloc clară. După cum s-a menţionat deja, Ang II exogenă se poate acumula în ţesuturile ţintă, probabil ca urmare a captării sale în lizozomi [33]. Ang II ar putea exercita efecte intracelulare la nivelul veziculelor de endocitoză şi endozomilor, însă calea de internalizare a Ang II în nucleu nu este cunoscută.

Studiile iniţiale care au demonstrat apariţia nucleară a Ang II administrată *in vivo* reprezintă un argument împotriva formării intracelulare a acestui peptid [15,29]. Formarea intracelulară a Ang II a fost însă sugerată în celulele tubulare proximale şi în celulele juxtaglomerulare [48]. Angiotensina II produsă intracelular la nivelul tubului proximal renal pare a fi secretată în lumenul acestuia şi acţionează prin intermediul receptorilor AT_1 apicali. Această cale este susţinută de raportul Ang I/Ang II de aproximativ 1 în rinichi şi în tubii proximali [49]. Pe de altă parte, raportul Ang I/Ang II în endozomi este mai mic de 0,2 şi Ang II pare a fi generată intraluminal din Ang I la nivelul membranei în perie şi apoi transportată activ intracelular [50]. Ca urmare, posibilul rol al Ang II formate intracelular în reglarea receptorilor nucleari rămâne de elucidat.

Rinichiul conţine toate componentele necesare producerii de Ang II din angiotensinogen (renină, enzimă de conversie, Ang I şi ARNm pentru angiotensinogen), alături de Ang II [49,51]. Peptidele angiotensinice, enzima de conversie şi receptorii AT_{1a} par a fi localizate şi în endozomii renali, indiferent de mărimea acestora [50]. Endozomii renali obţinuţi de la şobolanii hrăniţi cu o dietă săracă în sodiu asociază o capacitate de legare aproape exclusivă, cu mare afinitate, a anticorpilor anti-receptori AT_{1a}, comparativ cu cei care primesc o dietă bogată în sodiu. Interesant este însă faptul că, indiferent de dieta folosită, nivelurile Ang II endozomale nu sunt semnificativ diferite. Deci, creşterea numărului şi sensibilităţii receptorilor AT_{1a}, şi nu acumularea peptidului în endozomi, ar fi necesară pentru amplificarea reabsorbţiei sodiului indusă de Ang II. Populaţia distinctă de endozomi care asociază o mare capacitate de legare a anticorpilor anti-AT_{1a}

Scanned with OKEN Scanner

la animalele cu dietă săracă în sodiu se constituie într-o categorie minoră, însă cu conținut și proprietăți deosebite. Se sugerează astfel că traficul receptorului de tip AT_{1a} se realizează prin intermediul unei populații endozomale înalt selectivă, separat de fluxul redus și neselectiv către celelalte compartimente intracelulare.

7.3. PARTICULARITĂȚI TISULARE ALE CAPTĂRII ȘI INTERNALIZĂRII PRORENINEI, RENINEI ȘI ANGIOTENSINEI CIRCULANTE

Studii experimentale realizate la nivelul cordului izolat și perfuzat de șobolan au pus în evidență capacitatea acestuia de a produce Ang I și Ang II, fenomen dependent de renina produsă renal. Captarea reninei circulante la nivel vascular și cardiac pare a contribui la controlul tensiunii arteriale [52]. Legarea reninei a fost descrisă la nivelul cordului de șobolan [53]. De asemenea, celulele mezangiale umane în cultură pot lega specific, prin intermediul receptorilor, renina umană [54].

Renina și prorenina recombinante sunt internalizate la 37°C în cardiomiocitele ventriculare și fibroblastele neonatale de șobolan, în cultură primară [52]. După internalizare, prorenina este rapid activată. Acest proces de internalizare este dependent de receptorul pentru manoză 6-fosfat deoarece administrarea concomitentă de manoză 6-fosfat îl inhibă. Conversia proteinei precursoare într-un agent biologic activ este un proces dependent de endocitoză. Practic, acesta este primul studiu care demonstrează activarea intracelulară a proreninei extracelulare în celule extrarenale. Acest fenomen pare a fi real deoarece *in vivo* celulele sunt în mod continuu expuse proreninei purtătoare de semnal manoză 6-fosfat. Legarea celulară și internalizarea reninei și proreninei, precum și activarea intracelulară a proreninei, ar putea determina niveluri de activitate enzimatică intracelulare mai mari decât cele din mediul extracelular. Dacă angiotensinogenul ar fi internalizat prin fluidul de endocitoză, în același timp cu endocitoza mediată de receptor a reninei și proreninei, atunci ar apărea condițiile sintezei intracelulare de Ang I. Dacă însă Ang I și/sau Ang II sunt produse intracelular rămâne o problemă extrem de controversată.

Pentru a verifica dacă și prorenina nativă umană este internalizată și activată, miocite neonatale de șobolan au fost incubate timp de 4 ore, la 37°C, în prezența a variate lichide biologice umane ce conțineau prorenină [55]. Captarea (internalizarea) și activarea proreninei plasmatice de la subiecții cu stenoză arterială renală și/sau hipertensiune, ca și a proreninei din lichidul folicular, sunt dependente de receptorii pentru manoză 6-fosfat/factor de

Scanned with OKEN Scanner

creştere asemănător insulinei tip II (M6P/IGFII). Cantităţile totale de renină şi prorenină celulară, native, captate, sunt însă de 4 până la 10 ori mai mici decât după incubarea cu prorenina umană recombinantă. Deşi plasma conţine fosfataze alcaline capabile să inactiveze atât M6P şi receptorii solubili M6P/IGFII (care blochează competitiv legarea reninei), cât şi proteinele (de exemplu, insulina sau IGFII) care induc creşterea numărului de receptori de suprafaţă M6P/IGFII, acestea nu sunt răspunzătoare de captarea modestă a proreninei native umane de origine renală sau ovariană de către miocite. Cantitatea de prorenină internalizată de către miocite, şi deci cantitatea de Ang II formată, pare a fi dependentă de glicozilarea şi/sau fosforilarea proreninei, dar şi de concentraţia receptorilor solubili M6P/IGFII şi a factorilor de creştere ce modulează receptorii M6P/IGFII de la nivelul membranei celulare miocitare.

Studii foarte recente demonstrează că activarea proteolitică a proreninei recombinante în renină la nivelul cardiomiocitelor umane este dependentă total şi precedată de legarea proreninei cu mare afinitate de receptorii M6P/IGFII [56].

Prorenina umană poate fi captată şi de celulele endoteliale venoase ombilicale umane (HUVEC) [53]. Acestea au fost incubate în prezenţa proreninei native şi proreninei tip K/A-2 (în care Lys42 este înlocuită cu Ala, prevenindu-se astfel clivarea de către proteazele cunoscute), cu sau fără M6P [57]. Celulele endoteliale au internalizat numai proreninele conţinând M6P. Datorită reciclării receptorului pentru M6P, cantitatea de prorenină internalizată a fost mult mai mare la 37°C decât la 4°C. În interiorul celulelor endoteliale prorenina nativă şi de tip K/A-2 au fost activate, deci transformate prin proteoliză în renina specifică. Renina nativă rezultată, spre deosebire de cea de tip K/A-2, a fost mai apoi degradată. Inhibitorii proteazelor cunoscute au interferat cu acest ultim proces, dar nu cu cel de activare al proreninelor, sugerând că enzima activatoare este diferită de orice sistem enzimatic cunoscut activator al proreninei. În plus, incubarea celulelor endoteliale în prezenţa angiotensinogenului nu a dus la formarea de angiotensine, celulele de tip HUVE nefiind capabile pe parcursul experimentului *in vitro* să internalizeze angiotensinogenul. Dacă se dovedeşte *in vivo* că celulele de tip HUVE nu pot sintetiza sau endocita angiotensinogenul, atunci internalizarea proreninei mediate de receptorul pentru M6P descrisă mai sus apare ca fiind doar un proces de clearance.

Ang II sechestrată ar putea stimula şi alte situsuri de legare intracelulare (eventual receptori), sugerate de studii realizate pe cortexul cerebelos de şobolan [58], în placenta umană [59], în celulele musculare netede vasculare izolate şi în aorta de şobolan [60, 61], precum şi în miocitele izolate din ventriculul de şobolan adult [62].

Scanned with OKEN Scanner

Utilizarea anticorpilor cuplați cu particule de aur după fixare prin perfuzie cu o concentrație mare de glutaraldehidă a făcut posibilă evidențierea imunoreactivității Ang II în cortexul cerebelos de șobolan [58]. În aceste condiții s-a observat că peptidul este localizat în neuronii de tip Purkinje, granulari, în „coș" și stelați, clar separați de astrocite și procesele gliale Bergmann. Rămâne de stabilit dacă Ang II este produsă în neuroni și/sau este produsă în astrocite sau captată din circulație. Această ultimă variantă pare a fi susținută de imunoreactivitatea extrem de bogată pentru Ang II, sesizată în celulele endoteliale. Prezența în celulele de tip Purkinje a tuturor componentelor sistemului renină-angiotensină (renina, enzima de conversie a Ang I, endopeptidaza de clivare a angiotensinei-24.1548 și, bineînțeles, Ang II) reprezintă însă argumente în favoarea sintezei intraneuronale și *turnover*-ului octapeptidului. Din aceste celule, Ang II poate fi secretată și/sau captată de nucleul celulei mamă pentru a regla transcripția genică. Imunoreactivitatea intensă a Ang II, prezentă la nivelul contactelor celulă-celulă, sugerează transportul peptidului între celule chiar și prin intermediul *neuropil*-ului. În general, neuropeptidele pot acționa ca semnale transcelulare, fiind eliberate dintr-un neuron pentru a acționa în altul, atunci când celulele neuronale prezintă sistemele de captare necesare în membranele celulare și nucleare. La nivel subcelular, peptidul este clar localizat intranuclear în celulele endoteliale și celulele granulare și aproape exclusiv în eucromatina activă transcripțional. Această localizare nucleară unică, observată în neuroni și celulele endoteliale, ca și în hepatocite și celulele suprarenalei, reprezintă suport pentru studii funcționale viitoare privind rolul Ang II, formată predominant în rețeaua astroglială, în modularea transcripției genice, în special în rețeaua neuronală. Este, de asemenea, foarte interesant de studiat modul de difuzie a peptidului în lichidul extracelular către neuroni. Imunoreactivitate pentru Ang II este prezentă însă și în citoplasmă, în structuri asemănătoare veziculelor, dar și în mitocondriile din creier, ficat și suprarenală.

Implicarea unui sistem renină-angiotensină intracelular în steroidogeneza mitocondrială este deja discutată. Ideea a fost sugerată de localizarea imunocitochimică a reninei în corpii denși intramitocondriali [63], deși o legare nespecifică la acest nivel nu poate fi exclusă.

Autoradiografia cantitativă cu radioligandul neselectiv [^{125}I]Ang II și utilizarea antagoniștilor competitivi specifici demonstrează prezența la nivelul placentei umane a subtipurilor de receptori angiotensinici AT_1 și AT_2 [59]. Placenta umană pare a conține însă și o populație relativ redusă de situsuri de legare non-AT_1/non-AT_2, ce ar putea reprezenta noi situsuri de legare de înaltă afinitate pentru Ang II. În fracțiunile membranare placentare antagonistul receptorilor tip AT_2, PD123177, nu este competitiv la

Scanned with OKEN Scanner

concentrații relevante față de legarea [^{3}H]Ang II, în timp ce losartanul, antagonist al receptorilor tip AT_1, este competitiv numai în manieră monofazică pentru orice tip de legare specifică. Aceste observații sugerează că situsul de recunoaştere non-AT_1/non-AT_2 identificat prin autoradiografie ar putea fi un situs de legare citosolic. Acest aparent nou situs citosolic de mare afinitate pentru Ang II ar putea fi responsabil de sinteza de factori vasorelaxanți precum monoxidul de azot (NO) şi peptidul legat de hormonul paratiroidian (PTHrP) la nivelul placentei umane. Astfel, unul dintre rolurile Ang II utero-placentare ar fi reprezentat de controlul dezvoltării placentei prin intermediul mesagerilor secunzi de tip NO şi PTHrP. Aceste situsuri non-AT_1/non-AT_2 ar putea fi implicate şi în manifestarea efectelor angiogenetice ale Ang II, cu eliberarea factorului de creştere fibroblastică bazic (FGF-2) şi a factorului de creştere endotelială venoasă (VEGF) de la nivelul sinciţiotrofoblastului ce înconjoară vilii placentari. Studii autoradiografice au identificat situsuri de recunoaştere a Ang II de mare afinitate, citosolice, în endometrul uman şi în placenta bovină [64,59].

Un alt efect descris pentru Ang II ar fi acela de stimulare a unei proteine citoplasmatice hepatice [65, 66, 67]. Acest situs de legare intracitoplasmatic hepatic nu pare să medieze însă efectele intracelulare ale Ang II, sensibile la candesartan, deci nu poate fi un receptor de tip AT_1. Secvența acestei proteine solubile care leagă Ang II a fost clonată şi sugerează că este o peptidază intracelulară, respectiv o thimet-oligopeptidază [67, 68].

Internalizarea complexului peptid-receptor angiotensinic AT_1 pare a fi vital pentru o serie de acțiuni ale Ang II la nivelul tubilor proximali. În celulele epiteliale ale tubilor proximali de şobolan în cultură endocitoza receptorilor AT_1 apicali este cuplată cu creşterea activității fosfolipazei C (PLC) şi scăderea activității adenilat ciclazei (AC), urmate de creşterea fluxului de sodiu [69]. În acelaşi timp, Ang II induce, în mod dependent de endocitoza receptorului, creşterea transportului transepitelial de ^{22}Na într-o linie celulară derivată din rinichiul de oposum cu marsupiu (*Didelphis virginiana*). Aceste celule exprimă, în mod stabil, atât apical, cât şi bazolateral, receptorul AT_{1a} transfectat [70]. Într-o altă linie celulară tubulară (LLC-PKcl4, ce exprimă receptori AT_1 de iepure, denumită de aceea LLC-PK-AT1R) endocitoza Ang II mediată de receptorul AT_1 de la nivelul membranei celulare apicale stimulează o fosfolipază A_2 (PLA_2) independentă de Ca^{2+}, necesară pentru fluxul de sodiu şi reciclarea receptorului AT_1 [71]. Receptorul AT_1 exprimat la nivelul membranei celulare bazolaterale se internalizează lent şi nu pare a fi legat de activarea izoformei PLA_2.

Scanned with OKEN Scanner

7.4 MECANISME DE ACȚIUNE INTRACELULARĂ (INTRACRINĂ) ALE ANGIOTENSINELOR

Suficiente observații aduc dovezi care atestă și alte acțiuni intracelulare ale Ang II sintetice. Astfel, microinjectarea intracelulară de Ang II induce generarea semnalelor mesagerilor secunzi atât în celulele musculare netede vasculare din aorta de șobolan în cultură stimulate cât și în unele celule din vecinătate [43, 60]. Ang II administrată intracelular induce în câteva secunde o creștere a $[Ca^{2+}]_i$, cu localizare citosolică și nucleară, observată prin microscopie laser confocală și cu ajutorul Fluo 3. Acest efect nu se datorează difuziei Ang II microinjectate în spațiul extracelular, deoarece blocarea sau desensibilizarea receptorilor plasmalemali AT_1 cu candesartan (CV-11974) extracelular nu influențează semnalul de Ca^{2+} intracelular.

Efectele intracelulare ale Ang II microinjectate par a fi dependente de un situs de legare citosolic asemănător receptorului angiotensinic AT_1 plasmalemal datorită efectului inhibitor indus de injectarea concomitentă intracelulară de candesartan. Într-o anumită măsură se poate imagina că Ang II administrată intracelular se poate lega de receptorii AT_1 endocitați. Această ipoteză pare a fi susținută de date recente care sugerează că endocitoza receptorilor membranari ai hormonilor polipeptidici este nu numai parte componentă a căilor de desensibilizare și reciclare, dar și a semnalizării intracelulare active [72]. Deoarece semnalul Ang II fluorescente este vizibil imediat după microinjectare atât în citosol, cât și în nucleu, se poate emite ipoteza că după internalizare (sau după producerea intracelulară) peptidul induce efecte citosolice, apoi este translocat în nucleu unde poate participa direct la reglarea expresiei genice. Cum induce Ang II microinjectată, produsă intracelular sau internalizată semnalizare intracelulară, rămâne deocamdată o enigmă. Este posibil ca situsurile intracelulare de legare să fie cuplate cu proteine G, cu fosfolipaze, MAPK sau PKC [43,60]. Translocarea nucleară a izoformelor PKC dependente de Ca^{2+} este posibilă la anumite concentrații ale Ca^{2+} intracelular induse de Ang II de la acest nivel. În acest sens s-a sugerat deja o funcție de semnalizare intracelulară pentru proteinele G [73].

Creșterea $[Ca^{2+}]_i$ indusă de Ang II apare nu numai la nivelul celulelor microinjectate, ci și într-un număr de celule vecine, cu care acestea se află în contact direct [43,60]. Microinjectarea IP_3 induce o creștere a Ca^{2+} intracelular și în celulele vecine, asemănătoare celei induse de Ang II. Deci transmiterea semnalului intracelular pare a fi mediată de IP_3, deși însuși Ca^{2+} poate fi o componentă a căii de semnalizare joncțională de tip *gap*.

Scanned with OKEN Scanner

Ideea este susţinută de prezenţa proteinelor joncţiunilor *gap*, conexina 43 şi conexina 40, în celulele musculare netede vasculare *in vivo*. Cuplarea heterogenă a celulelor musculare netede vasculare din peretele vascular ar sugera comportament de tip sinciţiu funcţional la acest nivel. Astfel, un stimul intracelular (precum Ang II) ar putea activa de fapt un grup de celule.

Creşterea $[Ca^{2+}]_i$ indusă de Ang II în celulele microinjectate se datorează influxului de Ca^{2+} deoarece nu apare în medii fără Ca^{2+}. Acest efect este asemănător celui indus de Ang II extracelulară, adică un influx facilitat al Ca^{2+} prin canalele de Ca^{2+} dependente de voltaj. Ang II pare a exercita efecte directe asupra canalelor de Ca^{2+} membranare. Însă, în celulele adiacente celor microinjectate cu Ang II, creşterea $[Ca^{2+}]_i$ se datorează în principal eliberării mesagerului din depozitele intracelulare, efectul fiind blocat de pretratamentul cu thapsigargin.

Administrarea intracelulară de Ang II determină modularea curentului de calciu şi în miocitele ventriculare izolate de la şobolanul adult sau hamsterul auriu [62]. În miocitele ventriculare de şobolan adult normal Ang II dializată citosolic determină o reducere apreciabilă (cu 35 ± 5,5 %) a curentului de calciu (I_{Ca}) asociat influxului Ca^{2+}. Dacă se consideră posibilă sinteza intracelulară de Ang II în miocitele ventriculare, prin activarea sistemului renină-angiotensină cardiac, aceasta va duce la o scădere asemănătoare a I_{Ca} şi deci la o reducere a contractilităţii cardiace. Nici stimularea I_{Ca} prin AMPc exogen, nici inhibarea PKC nu modifică efectul Ang II asupra I_{Ca}. O ipoteză alternativă poate fi reprezentată de activarea protein kinazei dependentă de GMPc. Deoarece zaprinastul, un inhibitor al fosfodiesterazei GMPc, amplifică efectele Ang II intracelulare asupra I_{Ca}, este posibil ca efectul peptidului să fie parţial legat de creşterea concentraţiilor de GMPc intracelulare.

Efectele Ang II intracelulare sunt funcţie de specia de animale supuse experimentului. Extrem de interesantă este observaţia că dializa citosolică a Ang II amplifică I_{Ca} (36 ± 2,4 %) în miocitele ventriculare izolate de la hamsterul auriu, la care peptidul induce un efect inotrop pozitiv, prin creşterea duratei potenţialului de acţiune. Cascada AMPc pare a nu fi implicată în acest tip de efecte ale Ang II, însă activarea PKC este esenţială. Lipsa de efect a losartanului administrat intracelular, concomitent cu Ang II, în miocitele de hamster auriu, ca şi în miocitele de şobolan adult, sugerează că efectele Ang II asupra I_{Ca} nu implică activarea unui receptor (situs) intracelular asemănător receptorului angiotensinic membranar de tip AT_1. Astfel s-ar explica şi lipsa de efect a saralazinei administrată extracelular.

Scanned with OKEN Scanner

Posibilitatea ca Ang II administrată intracelular să difuzeze extracelular şi să activeze receptorii angiotensinici de tip AT_1 membranari cu reducerea consecutivă a I_{Ca} este extrem de mică deoarece losartanul administrat extracelular nu are are efecte inhibitorii. Deci peptidul dializat citosolic acţionează intracelular.

S-au descris efecte contractile după administrarea intracelulară, prin intermediul lipozomilor, de Ang I, Ang II şi saralazină la nivelul aortei izolate de şobolan. Aceste efecte au fost interpretate ca fiind mediate de un receptor intracelular cu caracteristici diferite de receptorul membranar AT_1 [61]. Însă, atât contracţiile induse de Ang II, cât şi efectele contractile induse de Ang I, ambele administrate intracelular, sunt inhibate de pre-tratamentul cu CV11947, un antagonist nepeptidic al receptorului tip AT_1, administrat şi acesta intracelular, cu ajutorul lipozomilor. În plus, contracţia mediată de receptorul intracelular prezumtiv suferă o desensibilizare marcată dependentă de doză, similară tahifilaxiei observate după stimularea receptorului plasmatic tip AT_1 de la nivelul aortei izolate de şobolan.

Ang IV este, de asemenea, capabilă să se internalizeze rapid în celulele endoteliale aortice bovine (BAEC) [74]. Internalizarea Ang IV marcate scade considerabil în condiţiile pre-tratamentului culturilor de miocite netede cu sucroză hiperosmolară sau cu inhibitori ai acidifierii endozomale precum monensin sau NH_4Cl. Aproximativ 50 % din Ang IV marcată internalizată este însă reciclată către mediul extracelular pe parcursul a 2 ore de incubare la 37°C. Peptidul marcat rămâne aproape integral intact intracelular pe durata întregului proces de internalizare şi reciclare, proprietate evidenţiată prin cromatografia în strat subţire (TLC). Aşa cum era de aşteptat, internalizarea Ang IV marcate este complet blocată de divalinal-Ang IV, un antagonist specific al receptorilor tip AT_4. Interesant este şi faptul că [^{125}I]-divalinal-Ang IV nu se internalizează. Aceste date sugerează că receptorul angiotensinic de tip AT_4 se internalizează şi este reciclat după cuplarea cu agonistul, demonstrând că este o proteină funcţională.

Saralazina [(Sar^1,Val^5,Ala^8)Ang II], considerată antagonist peptidic al Ang II, se poate şi ea internaliza după legarea de receptorii angiotensinici AT_1 [75].

O serie de rezultate obţinute recent arată că nu numai Ang II sau Ang I, dar şi Ang III şi IV pot avea acţiuni intracelulare la nivelul musculaturii netede aortice de şobolan [76], reprezentând prima semnalizare a efectelor contractile ale Ang III şi Ang IV, administrate intracelular, la nivelul musculaturii netede aortice izolate de şobolan.

Scanned with OKEN Scanner

Lipozomii pot elibera conţinutul lor, inclusiv peptide şi proteine, în citoplasma celulelor musculare netede traheale [77] şi vasculare [76]. Acest studiu, în care s-au utilizat lipozomii pentru încorporarea peptidelor angiotensinice (Ang I, Ang II, Ang III, Ang IV şi Ang 1-7), a scos în evidenţă faptul că toate angiotensinele testate, administrate astfel intracelular, induc contracţii puternice la nivelul aortei izolate de şobolan, cu excepţia Ang 1-7. Aceste contracţii sunt în totalitate atribuite peptidelor angiotensinice intracelulare deoarece lipozomii de control şi supernatantul suspensiilor lipozomale ultracentrifugate nu au nici un efect contractil. Efectele contractile intracelulare cele mai puternice sunt cele produse de Ang II, în timp ce contracţiile induse de Ang I, Ang III şi Ang IV sunt aproape echipotente pentru dozele testate. De remarcat este faptul că aceste efecte contractile sunt induse de concentraţii mici ale peptidelor angiotensinice, sunt tranzitorii şi în perfectă concordanţă cu ipoteza desensibilizării rapide a receptorilor.

Surprinzător este faptul că efectele contractile ale Ang I administrate intracelular par a fi induse în marea lor majoritate de acest derivat sau de un metabolit diferit de Ang II, întrucât captoprilul în concentraţie de 1 μM nu are efecte blocante, iar în concentraţie de 10 μM are efecte inhibitorii în proporţie de numai 32 % (observaţie personală, date neprezentate şi nepublicate).

Pretratamentul cu saralazină (15 minute, 10 μM) inhibă puternic contracţiile induse de Ang II încorporată în lipozomi (8,87 ± 1,21 %), comparativ cu derivatul simplu intralipozomal (figura 7.4.), dar şi contracţiile induse de celelalte peptide administrate intracelular cu ajutorul lipozomilor (pentru Ang I la 5,45 ± 1,62 %, Ang III la 6,71 ± 1,77 % şi Ang IV la 6,85 ± 1,66 %, comparativ cu derivatul simplu intralipozomal). Astfel, intensitatea de inhibiţie a saralazinei asupra efectelor contractile intracelulare este Ang II > Ang I ≅ Ang III ≅ Ang IV.

Inhibarea contracţiilor induse de peptidele angiotensinice după administrare intracelulară de saralazină sugerează participarea unor receptori angiotensinici asemănători celor plasmalemali de tip AT_1. Inhibiţia nu este totală probabil datorită faptului că saralazina este în acelaşi timp un agonist parţial al acestor receptori angiotensinici plasmalemali [75] sau intracelulari [61].

Nifedipina administrată în pretratament (15 minute, 10 μM) reduce de asemenea efectele contractile intracelulare ale Ang II la 6,75 ± 1,75 %, ale Ang I la 4,80 ± 0,98 %, ale Ang III la 4,19 ± 1,62 % şi ale Ang IV la 3,97 ± 0,83 (figura 7.4). Ordinea de inhibare de către nifedipină a acţiunii angiotensinelor intracelulare este Ang II > Ang I ≅ Ang III ≅ Ang IV.

Scanned with OKEN Scanner

Acest efect al blocantului canalelor membranare de Ca^{2+} de tip L, sugerează ipoteza că acţiunea peptidelor respective este dependentă în mare măsură de calciul extracelular ca şi în cazul abordului lor pe cale extracelulară.

Efectele induse de angiotensinele administrate intracelular sunt în mod special dependente de fosforilarea tirozin-kinazică (date personale, nepublicate), în contrast cu contracţiile induse după administrare extracelulară a acestor peptide [78].

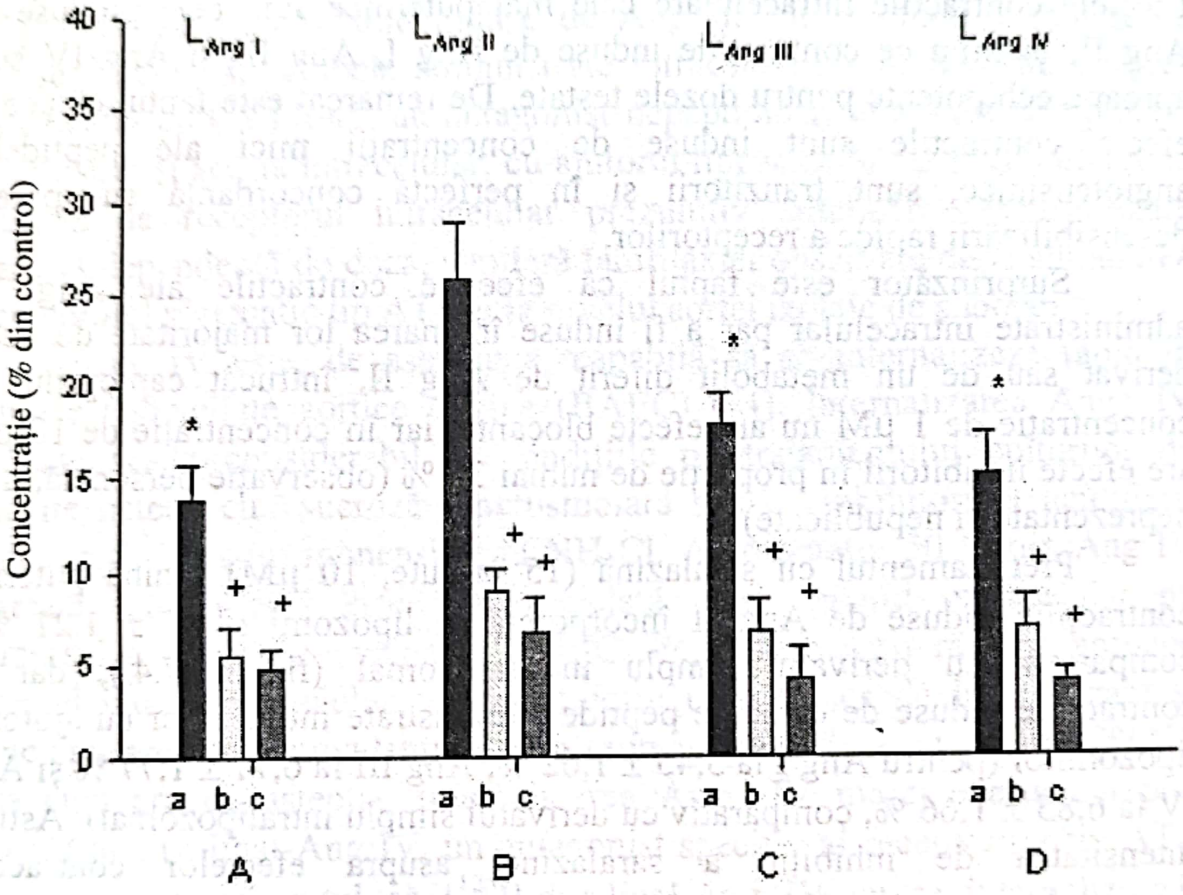


Figura 7. 4. Efectele contractile ale peptidelor angiotensinice [Ang I (A), Ang II (B), Ang III (C) şi Ang IV (D), 1 µM în soluţie apoasă] încorporate în lipozomi, în absenţa (a) sau în prezenţa pretratamentului cu 10 µM saralazină (b) sau nifedipină (c), la nivelul aortei izolate de şobolan.

Rezultatele sunt exprimate procentual (%) faţă de contracţia de control indusă de K^+ 40 mM (medie ± D.S., n=6). Pentru interpretarea statistică s-a utilizat testul de varianţă One Way ANOVA, completat cu metoda Student–Newman–Keuls. Valoarea $p<0,05$ a fost considerată întotdeauna semnificativă statistic, indiferent dacă efectele contractile ale peptidelor au fost comparate cu contracţia de control (*) sau cu contracţiile induse de peptidul respectiv neîncorporat în lipozomi (+). $L_{Ang\ I}$, $L_{Ang\ II}$, $L_{Ang\ III}$ şi $L_{Ang\ IV}$ reprezintă lipozomii ce încorporează Ang I, Ang II, Ang III şi, respectiv, Ang IV.

Scanned with OKEN Scanner

Ditiotreitolul (DTT), un inactivator al receptorilor AT_1, administrat în concentrație de 10 μM cu 15 minute înaintea Ang II, reduce, de asemenea, contracția indusă de peptidul încorporat în lipozomi la 11,82 ± 1,86 % (figura 7.5.). În mod asemănător, și sucroza hiperosmolară (15 minute pretratament, 50 mM) reduce (6,25 ± 1,16 %) contracția Ang II-indusă (figura 7.5.). Ambele efecte au fost diferite semnificativ de contracția de control, dar și de contracția indusă de Ang II intralipozomală per se. Internalizarea receptorilor angiotensinici de tip AT_1 este dependentă de activarea proteinelor G, fiind precedată sau reglată de fosforilarea capătului citoplasmatic al moleculei receptoare și asociată cu veziculele de endocitoză coafate cu clatrină, dependentă de dinamină și β-arestină [79,5]. În celulele HEK-293, internalizarea receptorului angiotensinic AT_{1a} se face în lipsa cuplării acestuia cu proteina G [80], iar distrugerea structurilor veziculare coafate cu clatrină de către ditiotreitol și sucroza hiperosmolară reduce drastic internalizarea receptorului tip AT_1 [8,81]. Efectele blocante extrem de puternice ale ditiotreitolului și sucrozei hiperosmolare asupra contracțiilor induse de Ang II administrată intracelular sugerează în mod clar că internalizarea receptorilor angiotensinici de tip AT_1 mediată de veziculele coafate de clatrină este larg implicată în efectele relatate. Această concluzie este susținută și de inhibarea totală prin pretratamentul cu 80 μM oxid fenilarsenic (PAO) a contracțiilor induse de Ang II intralipozomală [82]. Este cunoscut faptul că oxidul fenilarsenic este un inhibitor puternic al internalizării receptorilor angiotensinici de tip AT_1 mediată de veziculele coafate cu clatrină [83].

Distrugerea structurii veziculare coafate de clatrină este realizată și de depleția K^+, cu nigericin 10^{-5} M [83]. Depleția potasică cu nigericin nu influențează însă semnificativ efectele contractile induse de Ang II administrată intracelular (observații personale, date neprezentate și nepublicate).

Un alt inhibitor puternic cunoscut al internalizării receptorului angiotensinic AT_1 este concanavalina A [84]. Administrarea concanavalinei A în pretratament nu inhibă însă semnificativ contracțiile induse de Ang II intralipozomală (observații personale, date neprezentate și nepublicate). Se poate astfel trage concluzia că transactivarea receptorului factorului de creștere epidermică (EGF) nu este deloc importantă în efectele contractile ale Ang II intracelulare. Această concluzie derivă din demonstrarea recentă a efectului de proteoliză indus de concanavalina A asupra receptorului EGF [85], cu blocarea consecutivă a internalizării receptorului angiotensinic AT_1 în celulele musculare netede vasculare.

Scanned with OKEN Scanner

Monensinul, amină lizozomotropică, cu rol inhibitor al căii de degradare lizozomală şi al reciclării receptorilor angiotensinici AT_1 endocitaţi către membrana plasmatică [81], nu prezintă nici el efecte semnificative de inhibare a efectelor contractile ale Ang II administrate intracelular cu ajutorul lipozomilor (observaţii personale, date neprezentate şi nepublicate). Aceste date sunt în totală contradicţie cu acţiunile inhibitorii totale asupra efectelor Ang II extracelulare, sunt însă în deplin acord cu necesitatea prezenţei Ang intracelulare în vederea stimulării căii intracrine a sistemului renină-angiotensină, cu amplificarea proceselor de sinteză şi expresie membranară a receptorilor angiotensinici AT_1 [33].

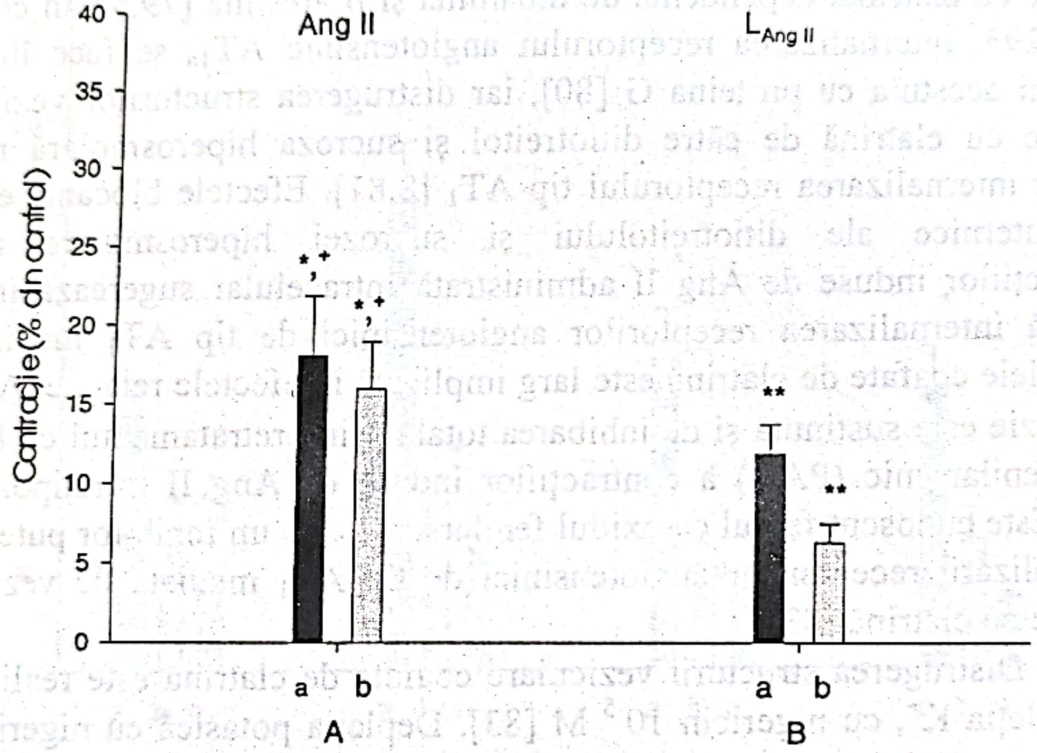


Figura 7.5. Efectele pretratamentului cu 10 µM ditiotreitol (a) şi 50 mM sucroză hiperosmolară asupra contracţiilor induse de Ang II (A) şi Ang II încorporată în lipozomi (B) la nivelul aortei izolate de şobolan. Rezultatele sunt exprimate procentual (%) faţă de contracţia de control indusă de K^+ 40 mM (medie± D.S., n=6). Pentru interpretarea statistică s-a utilizat testul de varianţă One Way ANOVA, completat cu metoda Student–Newman–Keuls. Valoarea $p<0,05$ a fost considerată întotdeauna semnificativă statistic, indiferent dacă efectele contractile ale peptidelor au fost comparate cu contracţia de control (*), cu contracţiile induse de peptidul neîncorporat în lipozomi (+) sau cu Ang II încorporată în lipozomi (**). $L_{Ang\ II}$ reprezintă lipozomii ce încorporează Ang II.

Poliaminele (spermina şi spermidina, în principal) pot interfera cu procesul de formare a veziculelor de endocitoză coafate de clatrină [86]. Administrarea de poliamine în baia de organ reduce contracţiile induse de

Scanned with OKEN Scanner

Ang II administrată extracelular [87], în timp ce în cazul administrării intracelulare a Ang II efectele acestora sunt mult mai reduse [88].

Dacă internalizarea receptorului angiotensinic AT_1 este întru totul responsabilă de efectele contractile ale Ang II ajunsă astfel intracelular şi relaţia acestuia cu receptorii angiotensinici citoplasmatici şi nucleari rămân de clarificat. Aceeaşi rezervă trebuie manifestată şi faţă de rolul internalizării receptorilor AT_1 plasmalemali în semnalizarea prelungită. Aceste clarificări sunt impuse şi de datele obţinute după folosirea angiotensinogenului încorporat în lipozomi, întrucât s-a observat că şi acesta induce efecte contractile la nivelul musculaturii netede aortice izolate de şobolan [89].

Toate datele de mai sus sugerează că internalizarea peptidelor angiotensinice ar avea şi rolul de stimulare a căii intracrine a sistemului renină-angiotensină, alături de cel de desensibilizare a transducţiei semnalului biologic după formarea complexului agonist-receptor.

Termenul de acţiune intracrină a fost introdus în 1984 pentru a descrie acţiunile unui peptid în interiorul celulelor de sinteză. Acest concept a fost extins apoi, incluzând şi acţiunile intracelulare ale hormonilor peptidici internalizaţi. Dovezi ale acţiunilor intracrine au fost adunate nu numai pentru Ang II, ci şi pentru insulină, hormonul de creştere, prolactină, factorul de creştere nervoasă (NGF), interferonul γ (IFNγ), factorul de creştere fibroblastică (FGF) A şi B (respectiv FGF-1 şi FGF-2), proteina Tat, factorul de creştere derivat din plachete (PDGF), peptidul legat de hormonul paratiroidian (PTHrP), factorul de creştere epidermică (EGF), factorul de creştere derivat din hepatom, opioizii endogeni, angiogenină etc. [90, 91].

Modalităţile de acţiune intracelulară a hormonilor peptidici pot fi sistematizate astfel: legarea de receptori în reticolul endoplasmic imediat după sinteză şi generarea mesagerilor secunzi, cum este cazul factorului de creştere derivat din plachete tip B, PDGF-B [92]; prin legarea de receptorii intraveziculari după internalizare, cu generarea consecutivă a mesagerilor secunzi, ca în cazul factorului de creştere epidermică, EGF, în absenţa domeniului său de ancorare membranară [93]; legarea de receptorii prezenţi la nivelul membranei nucleare, cu generarea consecutivă a mesagerilor secunzi, spre exemplu insulina [72]; legarea de componentele nucleolare aşa cum realizează factorul de creştere fibroblastică, FGF, peptidul legat de hormonul paratiroidian, PTHrP, sau angiogenina [94, 95, 96]; legarea de cromatină, ca în cazul Ang II, peptidului legat de hormonul paratiroidian, PTHrP, sau factorului de creştere nervoasă, NGF [95, 97, 98].

Pornind de la cunoştinţele actuale, apare ca extrem de importantă determinarea acţiunilor peptidelor şi hormonilor sintetizaţi intracelular sau a

Scanned with OKEN Scanner

celor internalizaţi. Semnificaţia fiziologică, dacă există, a acestor efecte intracrine este cu atât mai importantă cu cât hormonii intracrini par să reprezinte reglatori homeostatici ai mediului intracelular, stabilizatori ai sistemelor intracelulare pe căi încă departe de a fi înţelese [99].

Pentru Ang II s-au propus următoarele acţiuni intracrine importante: asigurarea informaţiei necesare modulării de „finețe" a acţiunilor peptidului legat de receptorii membranari; asigurarea informaţiei necesare reglării producerii de componente ale transducţiei semnalului biologic precum receptorii, factorii de transcripţie nucleară şi mediatorii lanţului de semnalizare intracelulară; amplificarea sau reducerea (ca durată şi intensitate) a efectelor cuplării hormonului cu receptorii de suprafaţă, precum alterarea fluxurilor intracelulare de Ca^{2+} pentru generarea unui semnal fiziologic [62, 60, 100].

Chiar dacă nu este dovedit faptul că acţiunile intracrine reprezintă o componentă obligatorie a tuturor efectelor hormonilor peptidici sau a acţiunilor celulare ale factorilor de creştere peptidici, această posibilitate nu poate fi exclusă în acest moment. În unele cazuri, acţiunile intracelulare ale unui peptid pot modula sau amplifica semnalul de la suprafaţa celulară deoarece peptidul intracelular pare a stimula aceiaşi mesageri intracelulari (sau asemănători) ca şi în cazul legării de receptorii de la suprafaţa membranei celulare.

Alături de cele semnalate, acţiunea intracrină poate manifesta efect modulator chiar asupra componentelor sistemului intracrin. Ang II intracelulară poate amplifica transcripţia componentelor sistemului renină-angiotensină, ca şi a componentelor lanţului de mediatori a efectelor peptidului. Astfel, Ang II poate influenţa capacitatea şi puterea de răspuns a însuşi sistemului său intracrin [100].

O altă posibilitate de intervenţie a hormonilor internalizaţi a fost recent sugerată. Astfel, IFNγ [101] şi Ang II pot utiliza focalizarea nucleară a semnalizării induse de receptorii de suprafaţă pentru a transloca factorii de transcripţie precum STAT în nucleu. În acest mod, internalizarea complexului ligand-receptor pare a fi capabilă să determine legarea factorilor de transcripţie (citosolici) la acest complex, cu transportul consecutiv al întregului sistem în nucleu. Devine astfel posibilă focalizarea (localizarea) nucleară a semnalelor de suprafaţă hormonale sau peptidice pentru translocarea nucleară a factorilor de transcripţie asociaţi. Deci, factorii de transcripţie care nu prezintă semnale specifice pot fi importaţi nuclear ca urmare a formării complexului hormon (peptid)-receptor de suprafaţă şi în acest mod pot influenţa transcripţia genică.

Scanned with OKEN Scanner

Implicarea acțiunilor intracrine în procesele de diferențiere funcțională pare a fi dovedită prin faptul că Ang nucleară determină modificări ale conformației cromatinei, în acord cu transcripția genică [102].

Una dintre ipoteze sugerează că acțiunile intracrine reprezintă reminiscențe ale acțiunilor peptidelor/hormonilor la nivelul membranei celulare [90]. Această ipoteză este extrem de semnificativă dacă luăm în considerare teoria integrării simbiotice în celulele eucariote a mult mai simplelor celule procariote. Astfel, peptidele și alți factori care inițial reglau funcționalitatea celulelor procariote dinspre exterior, actualmente se pot constitui în reglatori homeostatici intracelulari ai celulelor eucariote în aceste circumstanțe. Din acest punct de vedere nu ar părea surprinzătoare descoperirea unor elemente ale diverselor sisteme de semnalizare asociate cu organitele celulare. Este posibilă și dezvoltarea în paralel a complexității sistemelor de semnalizare intracelulară cu sistemele bazate pe receptorii specifici de suprafață. De asemenea, nu putem exclude funcționarea primară intracrină a peptidelor/ hormonilor, care apoi să fie urmată de dezvoltarea acțiunii endocrine/ paracrine/autocrine a acestora.

Modul intracrin de acțiune a diverselor peptide/hormoni în celulele eucariote ar reprezenta suportul apariției și permanentizării unor anse de feedback, având drept consecință alterarea răspunsului celular la stimuli viitori. Este de notat faptul că această formă de diferențiere reprezintă un proces activ și, până la un punct, plastic sau modulator. Capacitatea aparentă a unor hormoni intracrini precum Ang II de a regla transcripția componentelor propriilor căi efectoare sau de sinteză este în acord cu aceste speculații. Este posibil ca toate celulele sensibile la un hormon/peptid să conțină același ligand intracelular, produs local, având rolul de a controla sinteza inițiată la nivel genomic a elementelor căilor de transducție a semnalului biologic al factorului respectiv, dar și de a media efectele de lungă durată ale acestuia. În unele tipuri celulare, realizarea și permanentizarea unor astfel de anse de feedback pot servi ca bază pentru memorie funcțională. În consecință, răspunsurile celulare pe termen lung induse de factorul respectiv pot fi condiționate de orice alt factor care influențează ansa hormonală intracrină. Această memorie celulară poate fi de tip neurologic, imunologic sau de orice altă natură. În mod distinct este caracterizată de crearea și modularea continuă a anselor hormonale intracelulare. Se poate astfel considera că această formă de memorie celulară este plastică și activă, deoarece necesită acțiune hormonală intracelulară.

Scanned with OKEN Scanner

Este cunoscut faptul că multiplii mesageri secunzi generați de legarea agonistului de receptor pot interacționa în vederea apariției unor niveluri crescute și persistente ale unor tipuri de mediatori. Se consideră că acesta este mecanismul implicat în procesul de "memorizare" a unor sisteme biologice. Generalizarea acestui mecanism trebuie realizată cu circumspecție datorită neconcordanței între neliniaritatea concentrațiilor de mesageri secunzi necesari pentru a produce aceste efecte de „dezvoltare" și precizia și specificitatea de acțiune a diverselor sisteme hormonale.

Localizarea mediatorilor în diversele organite celulare se asociază cu un nivel de complexitate superior al acestui proces, fără a-l explica în totalitate [103,104]. Un sistem hormonal intracrin ar putea servi drept bază pentru aceste capacități independente și care nu interferă major cu acțiunile hormonale celulare clasice. În acest mod, Ang II intracrină pare a stimula cantitativ, în nucleii hepatocitelor, transcripția genică pentru angiotensinogen și renină, dar și creșterea propriilor concentrații intracelulare în prezența enzimei de conversie [100]. Drept urmare, expunerea acestor celule la angiotensină poate induce un ciclu în care Ang II internalizată declanșează un efect intracrin prin mecanism de feedback pozitiv, de amplificare a producției endogene de Ang II. Efectul imediat ar fi reprezentat de modificarea capacității de funcționare a sistemului intracrin astfel încât Ang II celulară să rămână la un nivel superior celui bazal un timp oarecare și după revenirea la normal a concentrațiilor extracelulare, prin instalarea și permanentizarea memoriei celulare a expunerii inițiale la Ang II. Celulele care posedă sisteme intracrine active pot fi considerate a fi la un alt nivel de responsivitate (rezistență) față de hormonul/factorul respectiv.

Din ce în ce mai multe date sugerează că factorii biologici activi (inclusiv Ang II), internalizați sau sintetizați local, împreună cu un sistem de semnalizare intracrin, par a fi prezenți în toate sistemele sensibile la respectivul agonist. Important pare a fi și faptul că îndepărtarea factorului intracelular (sau eliminarea acțiunii intracelulare a factorului respectiv) poate duce în timp la alterarea reactivității celulare la acel factor, dar și a altora prin procesul de transactivare [90].

Mulțumiri

Cercetările colectivului nostru, ca și publicarea monografiei, au fost realizate în cea mai mare parte cu fonduri din granturile nr. 9/1998, 55/1999, 699/2000, 787/2001, 30/2001 și C248, aprobate de Ministerul Educației și Cercetării, fost Ministerul Educației Naționale (prin C.N.C.S.I.S.).

Scanned with OKEN Scanner

Bibliografie

1. Mukherjee S, Ghosh RN, Maxfield FR. Endocytosis. Physiol Rev, 77, 759–803, 1997.
2. Townbridge IS, Collawn JF, Hopkins CR. - Annu Rev Cell Biol, 9, 129–161, 1993.
3. Anderson RGW. - Proc Natl Acad Sci USA, 90, 10909–10913, 1993.
4. Montesano R, Orci L, Robert A, Roth J. - Nature, 296, 651–653, 1982.
5. Ferguson SSG. - Pharmacol Rev, 53, 1–24, 2001.
6. Krueger KM, Daaka Y, Pitcher JA, Lefkowitz RJ. – J. Biol. Chem., 272, 5–8, 1997.
7. Hunyady L. - J Amer Soc Nephrol, 10, S47-S56, 1999.
8. Thomas WG. - Regul Pept, 79, 9–23, 1999.
9. Modrall JG, Nanamori M, Sadoshima J, Barnhart DC, Stanley JC, Neubig RR. - Amer J Physiol-Cell Physiol, 281, C801–C809, 2001.
10. Van Kats JP, De Lannoy LM, Danser AHJ, Van Meegen JR, Verdouw PD, Schalekamp MADH. - Hypertension, 30, 42–49, 1997.
11. Gomez RA, Norling LL, Wilfong N, Isakson P, Lynch KR, Hock R, Quesenberry P. - Hypertension, 21, 470–75, 1993.
12. Kitazono T, Padgett RC, Armstrong ML, Tompkins PK, Heistad DD. - Circulation, 91, 1129–1134, 1995.
13. Potter DD, Sobey CG, Tompkins PK, Rossen JD, Heistad DD. - Circulation, 98, 800–807, 1998.
14. Richardson JB, Beaulnes A. - J Cell Biol, 51, 419–432, 1971.
15. Robertson AL Jr, Khairallah PA. - Science, 172, 1138–1139, 1971.
16. Anderson KM, Murahashi T, Dostal DE, Peach MJ. - Amer J Physiol, 264, C179–C188, 1993.
17. Anderson KM, Peach MJ. – J. Vasc. Res., 31, 10–17, 1994.
18. Fu ML, Schulze W, Wallukat G, Elies R, Eftekhari P, Hjalmarson A, Hoebeke J. - Recept Chan, 6, 99–111, 1998.
19. Baker KM, Booz GW, Dostal DE. - Annu Rev Physiol, 54, 227-41, 1992.
20. Re RN, Vizard DL, Brown T, Bryan B. - Biochem Biophys Res Commun, 119, 220–227, 1984a.
21. Sen I, Rajasekaran AK. - J Moll Cell Cardiol, 23, 563–72, 1991.
22. De Mello WC, Danser AHJ. - Hypertens, 35, 1183–1188, 2000.
23. Kajstura J, Cigola E, Malhotra A, Li P, Cheng W, Meggs LG, Anversa P. - J Moll Cell Cardiol, 29, 859–70, 1997.
24. Tamura M, Wanaka Y, Landon EJ, Inagami T. - Hypertension, 33, 626–632, 1999.
25. Sadoshima J, Xu Y, Slayter HS, Izumo S. - Cell, 95, 977-984, 1993.
26. Dostal DE, Rothblum KN, Conrad KM, Cooper GR, Baker KM. - Amer J Physiol, 263, C851–863, 1992.
27. Van Kesteren CAM, Saris JJ, Dekkers DHW, Lamers JMJ, Saxena PR, Schalekamp MADH, Danser AHJ. - Cardiovasc Res, 43, 148–156, 1999.
28. Bianchi C, Gutkowska J, De Lean A, Ballak M, Anand-Srivastava MB, Genest J, Cantin M. - Endocrinology, 118, 2605–2607, 1986a.
29. Urata H, Khosla MC, Bumpus F, Husain A. - Proc Natl Acad Sci USA, 85, 8251–8255, 1988.
30. Bianchi C, Gutkowska J, Charbonneau C, Ballak M, Anand-Srivastava MB, De Lean A, Genest J, Cantin M. - Endocrinology, 119, 1873–1875, 1986b.
31. Zou L-X, Imig JD, Von Thun AM, Hymel A, Ono H, Navar LG. - Hypertension, 28, 669–677, 1996.

Scanned with OKEN Scanner

REZUMAT

Lucrarea monografică *Sistemul renină-angiotensină – de la experiment la clinică* realizează o cuprinzătoare expunere a cunoştinţelor actuale care privesc formarea, proprietăţile şi implicaţiile funcţionale normale şi patologice ale angiotensinelor circulante şi tisulare. Cele 7 capitole ale lucrării conţin o paletă largă de date biochimice, fizio-farmacologice şi clinice despre SRA ca sistem enzimatic şi hormonal, circulant şi tisular, prevăzut cu acţiuni multiple generale şi locale, de la nivel de organism la celulă.

Capitolul 1 – consacrat biochimiei SRA, prezintă întreaga gamă de fenomene enzimo-chimice ale biosintezei şi proprietăţile enzimatice ale cuplului prorenină - renină, începând cu macula densa ca traductor al secreţiei de renină şi sfârşind cu factorii de autoreglare şi evaluare a renin-eliberării. În acelaşi capitol sunt incluse cunoştinţele clasice şi actuale privind ceilalţi factori ai cascadei enzimatice formatoare de angiotensine, reprezentaţi de angiotensinogen ca substrat reninic şi enzima de conversie generatoare de Ang II activă. O atenţie deosebită se acordă metabolizării şi mecanismului de acţiune a angiotensinelor biologic active asupra receptorilor specifici. Sunt menţionate, de asemenea, metodele de determinare a angiotensinei plasmatice şi mecanismul molecular de internalizare a receptorilor angiotensinergici.

Capitolul 2 începe cu evoluţia filogenetică şi ontogenetică a SRA circulant şi continuă cu efectele fiziologice ale angiotensinelor la nivel cardiac şi vascular. Rând pe rând sunt expuse acţiunile angiotensinelor asupra musculaturii cardiace şi vasculare netede coronariene, pulmonare, renale, splahnice, cerebrale, uterine şi cutanate, insistându-se asupra modului de acţiune, local sau în cadrul mecanismelor neuroreflexe de control al hemodinamicii. Referitor la implicaţiile angiotensinelor în controlul activităţii cardiovasculare realizate prin mecanism neuroreflex cerebral, este discutată participarea atât a organelor circumventriculare (organul subfornical şi organul vascular al laminei terminalis), cât şi rolul nucleilor supraoptic şi paraventricular hipotalamici şi al nucleului tractusului solitar. Acţiunile cardiovasculare sunt întregite de modificările morfologice de la nivelul diverselor vase, inclusiv renale. În încheierea capitolului 2 se insistă asupra rolului SRA în menţinerea echilibrului hidroelectrolitic prin mecanismul participării sale la reglarea aportului şi eliminărilor de apă şi electroliţi şi a comportamentului dipsogen, în general.

În capitolul respectiv sunt integrate, în contextul datelor din literatura de specialitate, o parte din rezultatele obţinute de grupul fiziologilor ieşeni.

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul 3 prezintă SRA intrarenal, începând cu componentele sale active de la nivelul rinichiului şi sfârşind cu implicaţiile hemodinamice glomerulare şi tubulare ale angiotensinelor formate local. Sunt tratate în subcapitole distincte acţiunile angiotensinei asupra filtrării glomerulare, reabsorbţiei tubulare şi circulaţiei din vasele drepte şi capilarele peritubulare. Un loc aparte deţine rolul SRA în mecanismul de feedback tubulo-glomerular. Capitolul se încheie cu expunerea interrelaţiilor existente între SRA intrarenal şi alţi factori biologic activi, întregită de contribuţia acestora nu numai în economia funcţională renală, ci şi la controlul presiunii arteriale sistemice.

Capitolul următor (capitolul 4) realizează o amplă prezentare a implicaţiilor SRA în fiziologia glandei suprarenale. Se insistă asupra rolului SRA ca factor primar de stimulare a secreţiei de aldosteron. Tulburările mecanismului de funcţionare a sistemului renină-angiotensină-aldosteron sunt ilustrate de fenomenele de hiperaldosteronism primar şi secundar, însoţitor sau generator de diferite stări patologice renale şi extrarenale.

În capitolul 5 sunt prezentate principalele căi alternative extrarenale ale SRA. După o succintă trecere în revistă a componentelor tisulare ale SRA, se expun enzimele formatoare de angiotensine active şi particularităţile funcţionale ale acestora la nivelul cordului, vaselor, creierului, hipofizei, pinealei, glandelor suprarenale şi tractului reproductiv.

Fiecare sursă de enzime extrarenale formatoare de angiotensine tisulare este discutată atât din punct de vedere al implicaţiilor sale locale, cât şi sub aspectul participării la reacţiile neuroendocrino - metabolice generale determinate de SRA ca sistem hormonal unitar.

Capitolul 6 abordează problema de mare actualitate a rolului SRA în patologia cardiovasculară. Întregind o parte din datele menţionate în capitolele 2 şi 5 cu aspecte teoretice şi practice de ordin clinic, capitolul 6 realizează o amplă trecere în revistă a cunoştinţelor actuale privind SRA-aldosteron circulant şi tisular în insuficienţa cardiacă, infarctul miocardic şi hipertensiunea arterială.

Sunt prezentate atât mecanismele patogenice ale implicării SRA-aldosteron la producerea şi evoluţia bolilor cardiovasculare, cât şi indicaţiile şi limitele terapiei cu inhibitori ai enzimei de conversie sau blocanţi ai receptorilor angiotensinici.

Ultimul capitol (capitolul 7) conţine o gamă variată de date şi exemple care reflectă tendinţele actuale ale cercetărilor experimentale ce privesc SRA circulant şi tisular. Sunt menţionate studiile referitoare la translocarea şi internalizarea complexului angiotensină-receptor, mecanismele de acţiune intracelulară ale angiotensinelor etc., în contextul preocupărilor actuale ale cercetătorilor ieşeni.

Prin varietatea şi actualitatea aspectelor abordate lucrarea se adresează atât cercetătorilor şi specialiştilor, cât şi întregului corp medical.

Scanned with OKEN Scanner

Summary

This monograph, *Renin-Angiotensin System from Experiment to Clinic* is a comprehensive exposition of present knowledge concerning the formation, properties and functional implications, normal and pathological, of circulating and tissue angiotensins. The seven chapters circumvent a large area of biochemical, physio-pharmacological and clinical information on renin-angiotensin system (RAS) as an enzymatic and hormonal system, with its two components, systemic - circulating and local - tissue related, endowed with multiple local and general actions, from the cellular level to that of the organism.

Chapter 1, devoted to RAS biochemistry, presents the entire range of chemical-enzymatic phenomena of the prorenin-renin couple biosynthesis and its enzymatic properties, starting with the macula densa as the transducer for renin secretion and ending with the factors of autoregulation and evaluation of renin secretion. The same chapter includes classic and new knowledge concerning the other factors in the enzymatic cascade that ensures the formation of angiotensins, represented by angiotensinogen as the renin substrate and the converting enzyme that generates the active angiotensin II. Special attention is given to the metabolism of biologically active angiotensins and to their mechanism of action involving specific receptors. The methods for determination of plasma angiotensin and the molecular mechanism of angiotensin receptor internalization are also mentioned.

Chapter 2 begins with the phylogenetic and ontogenetic evolution of circulating RAS and continues with the physiological effects of angiotensins at the cardiac and vascular levels, including details on the action upon the vascular smooth muscle in various circulatory territories (coronary, pulmonary, renal, splachnic, cerebral, uterine, cutaneous), with an emphasis on the mode of action, local or within the neuro-reflex mechanisms of hemodynamic control. Regarding the implications of angiotensins in the control of cardiovascular activity accomplished by cerebral neuro-reflex mechanisms, the participation of circumventricular organs (subfornical organ and vascular organ of lamina terminalis) is discussed, as well as the role of hypothalamic nuclei (supraoptic and paraventricular) and that of the nucleus of the tractus solitarius. The cardiovascular actions are completed by morphological changes induced in various vessels, including the renal

Scanned with OKEN Scanner

ones. In the end of chapter 2 we insist on the role of RAS in the maintenance of hidroelectrolytic equilibrium, through the mechanism of its participation to the regulation of the intake and elimination of water and electrolytes and of the general dipsogenic behavior. In the respective chapter some original contributions of the physiology research group from Iaşi are integrated in the context of the respective scientific literature.

Chapter 3 presents the intrarenal RAS, starting with its active components at the kidney level and ending with the glomerular hemodynamic and tubular implications of locally formed angiotensins. The actions of angiotensin upon glomerular filtration, tubular reabsorbtion and circulation in the vasa recta and peritubular capillaries are discussed in distinct sub-chapters, with a special focus on the role of RAS in the tubulo-glomerular feedback mechanism. The chapter ends with the presentation of the existing interrelations between intrarenal RAS and other biologically active factors, regarding their contribution not only to the renal functional economy but also to the control of systemic arterial pressure.

The next chapter (chapter 4) represents a wide coverage of the implications of RAS in the physiology of the adrenal gland, focused on the role of RAS as primary factor for the stimulation of aldosterone secretion. The disturbances in the functioning mechanism of the renin-angiotensin-aldosterone system are illustrated by the phenomena of primary and secondary hyperaldosteronism, accompanying or generating various renal and extrarenal pathological conditions.

The main alternative extrarenal pathways of the RAS are presented in chapter 5. After a brief review of the tissue components of RAS we describe the enzymes generating active angiotensins and their particular functional features at the level of the heart, brain, hypophysis, pineal gland, adrenal glands and reproductive tract. Each of the sources of extrarenal enzymes forming tissue angiotensins is discussed both regarding its local implications and the participation to the general neuro-endocrine and metabolic reactions determined by RAS as a unitary hormonal system.

Chapter 6 is devoted to the hot topic of RAS in cardiovascular pathology. Completing part of the data mentioned in chapters 2 and 5 with clinical theoretical and practical aspects, chapter 6 represents a wide overview of the present knowledge regarding the circulating and tissue RAS in heart failure, myocardial infarction and arterial hypertension. Both the pathogenic mechanisms of the involvement of renin-angiotensin-aldosterone system in the generation and evolution of cardiovascular diseases and the therapeutic limits of converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers are presented.

Scanned with OKEN Scanner

The last chapter (chapter 7) contains a variety of data and examples reflecting the present trends in the experimental research on circulating and tissue RAS. Studies concerning the translocation and internalization of the angiotensin-receptor complex, the intracellular mechanisms of angiotensin action, etc., are mentioned in the context of the current interest of the research group from Iaşi.

Through the variety and careful update of the presented aspects, this book is addressed to specialists in the field, but also to all biomedical scientists and to the entire medical community.

Scanned with OKEN Scanner

CONTENTS

1. Biochemistry of the renin-angiotensin system (Gheorghe Petrescu) 15
1.1. Renin 15
1.1.1. Structure of renin 15
1.1.2. Renin synthesis and secretion 16
1.1.3. Enzymatic properties of renin 20
1.1.4. Renin metabolism 24
1.1.5. Regulation of the renin secretion 26
1.1.6. Renin activity evaluation 77
1.1.7. Renin inhibitors 85
1.2. Angiotensinogen – renin substrate 88
1.2.1. Angiotensinogen metabolism 92
1.2.2. Angiotensinogen evaluation methods 94
1.3. Angiotensins 96
1.3.1. Angiotensin I 97
1.3.2. Angiotensin II 98
1.3.3. Angiotensin III 99
1.3.4. Angiotensin IV 99
1.3.5. Angiotensin metabolism 100
1.3.6. Angiotensinergic receptors 103
1.3.7. Molecular mechanisms of internalization of the angiotensin receptors 110
1.3.8. Plasma angiotensin determination 111
1.4. Conversion enzyme 113
1.5. Angiotensinases 117
1.5.1. Aminopeptidases 119
1.5.2. Endopeptidases 119
1.5.3. Carboxypeptidases 120
1.5.4. Other angiotensin metabolisms 120
1.6. Angiotensin metabolism regulation 121
References 121

2. Circulating renin-angiotensin system (Gheorghe Petrescu) 141
2.1. Aspects of the phylogenetic evolution of the renin-angiotensin system 141
2.2. Signification of the ontogenetic evolution of RAS 145
2.3. Physiological implications of the renin-angiotensin system 153
2.3.1. Effects of angiotensins at the cardiac level 153
2.3.2. Action of angiotensin on the vascular bed 156
References 222

3. Intrarenal renin-angiotensin system (Gheorghe Petrescu) 235
3.1. Components of the renin-angiotensin system in the kidney 235
3.2. Intrarenal angiotensinergic receptors 242
3.2.1. Regulation of intrarenal angiotensinergic receptors 243
3.3. Intracellular transduction mechanism of the interaction between angiotensin II and its specific receptors in the kidney 244

Scanned with OKEN Scanner

3.4. Involvement of the intrarenal renin-angiotensin system in the functionality of the kidney 246
3.4.1. Renal haemodynamic actions of angiotensins 247
3.4.2. Tubular action of the renin-angiotensin system 254
3.5. Interrelations between the renin-angiotensin system and other active biological factors involved in the physiology of the kidney 265
References 270

4. Involvement of the renin-angiotensin system in the physiology of the adrenal gland (Gheorghe Petrescu) 279

4.1. Morphologic and functional particularities of the adrenal gland 279
4.2. Aldosterone biosynthesis 281
4.3. Biological effects of aldosterone 284
4.4. Regulation of the aldosterone secretion 287
4.4.1. Renin-angiotensin system – primary factor in the stimulation of the aldosterone secretion 288
4.4.2. Other hormone stimulation possibilities of the aldosterone secretion 301
4.5. Troubles in the functioning of the renin-angiotensin-aldosterone mechanism ... 304
4.5.1. Primary hyperaldosteronism 305
4.5.2. Hypokalemic primary hyperaldosteronism 306
4.5.3. Normokalemic primary hyperaldosteronism 306
4.5.4. Idiopathic hyperaldosteronism 307
4.5.5. Secondary hyperaldosteronism 308
4.6. The medulosuprarenal gland and RAS 314
References 318

5. Alternating pathways of the renin-angiotensin system (Ion Haulică) 323

5.1. Extrarenal angiotensin-forming enzymes 326
5.1.1. Tissue renin-like enzymes 326
5.1.2 Conversion enzyme 328
5.1.3. Chymase 330
5.2. Tissue angiotensins and angiotensinases 331
5.3. Tissue angiotensin receptors 334
5.4. RAS in heart and vessels 338
5.4.1. Heart renin-angiotensin system 339
5.4.2. Angiotensinogen 340
5.4.3. Cardiac conversion enzyme 341
5.4.4. Chymase 343
5.4.5. Cardiac actions of angiotensins 344
5.5. Vascular renin-angiotensin system 345
5.5.1. Vascular renin 345
5.5.2. Conversion enzyme 346
5.6. RAS from the brain and endocranial annex glands 351
5.6.1. Cerebral RAS 351
5.6.2. Pituitary RAS 360
5.6.3. Pineal RAS 364
5.7. Corticosuprarenal RAS 366
5.7.1. Medulosuprarenal RAS 368

Scanned with OKEN Scanner

5.8. Salivary RAS 370
5.9. Tissue and circulating renin-angiotensin system as a unitary hormonal system 371
5.10. RAS of the reproductive tract (Mihai Pricop) 374
5.10.1. Ovarian RAS 374
5.10.2. Role of the RAS at the level of the ovary 376
5.10.3 Components of the utero-placental RAS 378
5.10.4. Fetal RAS 380
5.10.5. RAS in normal pregnancy 381
5.10.6. Role of the RAS in the hydroelectrolytical balance of the pregnancy 382
5.10.7. RAS and regulation of the circulation in the pregnancy 383
5.11. Testicular and epididymal RAS 394
References 396

6. Renin-angiotensin system in the cardiovascular pathology (Radu Cristodorescu). 405
6.1. Renin-angiotensin-aldosterone system in heart failure 406
6.1.1. Definition of the heart failure 406
6.1.2. Evolution of concepts in heart failure and the implications of the actual neurohormonal concept 408
6.1.3. Circulating and tissue RAS in heart failure 411
6.2. Renin-angiotensin system in arterial hypertension 459
6.2.1. Direct effect of RAS in arterial hypertension 461
6.2.2. Contribution of RAS in essential hypertension 462
6.2.3. Arterial remodeling in hypertension 464
6.2.4. Clinical applications of RAS in the diagnosis and evaluation of arterial hypertension 469
6.2.5. RAS and antihypertensive therapy 471
6.3. ACE inhibitors therapy in the prevention of atherosclerosis progression and complication: probable indications in the near future 487
References 490

7. Actual trends in the study of the renin-angiotensin system (Gheorghe Petrescu, Marcel Costuleanu) 497
7.1. Membrane receptors and their role in the translocation and internalization of the angiotensin-receptor complex 497
7.2. Intracellular (nuclear) receptors 508
7.3. Tissue particularities of circulating prorenin, renin and circulating angiotensin cell capture and internalization 510
7.4. Intracellular (intracrine) mechanisms of angiotensins 514

References 525
Summary 531
Contents 535

Scanned with OKEN Scanner

ISBN 973-27-0887-5

Scanned with OKEN Scanner